

**ESCOLA SUPERIOR D'AGRICULTURA DE BARCELONA.**

**EXPLOTACIONS AGROPECUÀRIES**



**NEMATOFAUNA I ORGANISMES**  
**ENTOMOPATÒGENS PRESENT EN TRES SÒLS**  
**DE VINYA GESTIONATS SEGONS SISTEMES DE**  
**PRODUCCIÓ CONVENCIONAL, ECOLÒGIC I**  
**BIODINÀMIC.**

**AUTORA: SERRANO MOLINA, DAVINIA**

**PROFESSORS TUTORS: SORRIBAS ROYO, F.XAVIER  
ORNAT LONGARON, CESAR**

**GENER DE 2009**

**TÍTOL:**

Nematofauna i organismes entomopatògens presents en tres sòls de vinya gestionats segons sistemes de producció convencional, ecològic i biodinàmic.

**AUTORA:**

Serrano Molina, Davinia

**PROFESSORS TUTORS:**

Sorribas Royo, F.Xavier

Ornat Longaron, Cesar

**RESUM:**

En les finques Can Romeu de l'empresa de Caves Recaredo i Els Casots propietat del Sr. Josep Esteve situats a la comarca de l'Alt Penedès, es vol determinar per cada tipus de gestió de sòl (convencional, ecològic i biodinàmic), els nematodes fitoparàsits, entomopatògens, com els lliures, així com la presència de fongs entomopatògens, per poder determinar si les pràctiques de gestió la condicionen.

Una vegada aplicats els tractaments, els resultats de tots tres cultius ha sigut semblant i cap gènere suposava una amenaça per el cultiu. Els gèneres fitoparàsits trobats amb més densitat de població han sigut el *Pratylenchus* i la proporció dels nematodes lliures i els fitoparàsits ha estat igualada en tots els casos. La quantitat de nematofauna en sòl es va veure afectada dràsticament per els diferents tractaments en els cultius ecològic i biodinàmic, on els resultats obtinguts han sigut similars. El convencional ha sigut el cultiu que menys nematodes fitoparàsits contenia abans d'aplicar els tractaments, en canvi amb els nematodes entomopatògens s'ha produït el cas contrari. Pel que fa a fongs entomopatògens del sòl es pot dir que en cada tipus de cultiu hi predomina uns gèneres específics però el *Fusarium* ha estat present en la gran majoria de les mostres. S'ha de tenir en compte, que alguns factors han sigut determinants per la densitat de la nematofauna com són els diferents factors ambientals i externs i treballs practicats per cada tipus de cultiu.

**Paraules clau**

Nematofauna ,nematode, fitoparàsit, entomopatògen, *Pratylenchus*, *Paratylenchus*, *Fusarium*.

**TÍTULO:**

Nematofauna y organismos entomopatógenos presentes en tres suelos de viña gestionados según sistemas de producción convencional, ecológico y biodinámico.

**AUTORA:**

Serrano Molina, Davinia

**PROFESORES TUTORES:**

Sorribas Royo, F.Xavier

Ornat Longaron, Cesar

**RESUMEN:**

En las fincas Can Romeu de la empresa de Caves Recaredo y Els Casots propiedad del Sr. Josep Esteve situados en la comarca de el Alt Penedès, se quiere determinar para cada tipo de gestión del suelo (convencional, ecológico y biodinámico), los nematodos fitoparásitos, entomopatógenos, como los libres, así como la presencia de hongos entomopatógenos, para poder determinar si las prácticas de gestión la condicionan.

Una vez aplicados los tratamientos, los resultados de todos los cultivos ha sido similar y ningún género supondría una amenaza para el cultivo. Los géneros fitoparásitos encontrados con más densidad de población han sido el *Pratylenchus* y *Paratylenchus* y la proporción de los nematodos libres y los fitoparásitos ha estado igualada en todos los casos. La cantidad de nematofauna en el suelo se vio afectada drásticamente por los diferentes tratamientos en los cultivos ecológicos y biodinámico, donde los resultados obtenidos han sido similares. El convencional ha sido el cultivo que menos nematodos fitoparásitos contenía antes de aplicar los tratamientos, en cambio con los nematodos entomopatógenos se ha producido el caso contrario. Por otra parte, los hongos entomopatógenos del suelo en cada tipo de cultivo predominaba unos géneros específicos pero el *Fusarium* ha estado presente en la gran mayoría de las muestras. Se ha de tener en cuenta, que algunos factores han sido determinantes para la densidad de la nematofauna como son los diferentes factores ambientales y externos y los trabajos practicados así como el historial de cada tipo de cultivo.

**Palabras clave**

Nematofauna , nematodo, entomopatógeno, fitoparásito, *Pratylenchus*, *Paratylenchus*, *Fusarium*.

**TITLE:**

Entomopathogenic agencies and nematofauna present in three of vineyard soils management according to conventional production systems, organic and biodynamic.

**AUTHOR:**

Serrano Molina, Davinia

**TUTOR TEACHERS:**

Sorribas Royo, F.Xavier

Ornat Longaron, Cesar

**ABSTRACT:**

On the Can Romeu estate, which is part of the Recaredo cava cellars, property of Mr. Josep Esteve, and is situated in the Alt Penedès the goal is to determine for each kind of soil (conventional, ecologic or biodynamic) the kind of nematode fitoparasite and fungi, both of which are entomopathogenic, affects each type, and if they are conditioned by said soil.

Once the treatments have been applied, the result of all the crops was similar and neither of the species was seen to be a menace. The fitoparasites that were most frequently found were *Pratylenchus* and *Paratylenchus* and the proportion of free nematodes and fitoparasites has been equalled in all cases. The amount of nematodes in the soil was seen to be affected drastically by the different treatment in ecologic and biodynamic soils, where results in general were similar. Conventional soil was the crop where the least amount of fitoparasites were found before treatment on the other hand in the entomopathogenic nematodes the opposite effect was noted. The entomopathogenic fungi in the soil in each type of crop varied, the predominant genus being *Fusarium*, which was present in the great majority of the samples. It must be taken into account that various factors determine the density of nematodes (ambiental and other external factors and also the history of each kind of crop).

**Keywords**

Nematofauna , nematode, entomopathogenic, fitoparasite, *Pratylenchus*, *Paratylenchus*, *Fusarium*.

### **AGRAÏMENTS:**

Als meus professors tutors F.Xavier Sorribas i Cesar Ornat per les hores i consells durant la realització del T.F.C.

A Sheila Alcalá , David Fernández i Cristina Casali per la seva ajuda en certes pràctiques en la realització del T.F.C.

Als meus companys María Arribas, Laila Chaabi i Carlos Rebasa per els seus consells.

A tothom qui ha ajudat durant el procés de realització del projecte.

Annex 1: Plànols.....	44
Annex 2: Tractaments.....	46

<i>Figura 1: Banyes en el preparat de bonyiga (500).....</i>	<i>4</i>
<i>Figura 2: Banya en el preparat de sílice (501).....</i>	<i>5</i>
<i>Figura 3: Estoma de nematode fitoparàsit i entomopatògen.....</i>	<i>7</i>
<i>Figura 4: Nematodes lliures; un s'alimenta de bacteries i l'altre de fongs.....</i>	<i>7</i>
<i>Figura 5: Nematodes en les arrels.....</i>	<i>8</i>
<i>Figura 6: Taques foliars produïdes per l'atac de nematodes.....</i>	<i>11</i>
<i>Figura 7: Síntomes en arrels per atac de nematodes.....</i>	<i>11</i>
<i>Figura 8: Larves de G.mellonella infectades per nematodes.....</i>	<i>13</i>
<i>Figura 9: Fusarium verticillioides.....</i>	<i>15</i>
<i>Figura 10: Fusarium en fruit.....</i>	<i>15</i>
<i>Figura 11: Beauveria bassiana.....</i>	<i>16</i>
<i>Figura 12: Beauveria en insecte.....</i>	<i>16</i>
<i>Figura 13: Penicillium digitatum.....</i>	<i>16</i>
<i>Figura 14: Penicillium en taronja.....</i>	<i>16</i>
<i>Figura 15: Alternaria spp.....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 16: Alternaria en fulla.....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 17: Fileres on es van prendre les mostres de sòl de les parcel·les de vinya conreades.....</i>	<i>20</i>
<i>Figura 18: Presa de mostres de sòl de 0 a 20 cm de la superfície del sòl amb una aixada.....</i>	<i>20</i>
<i>Figura 19: Presa de mostres de sòl de 20 a 40 cm de la superfície del sòl amb una barrina STIHL model BT 121.....</i>	<i>21</i>
<i>Figura 20: Components del mètode d'extracció de nematodes mòbils del sòl de la safata Baerman .....</i>	<i>21</i>
<i>Figura 21: Sistema d'extracció de la Safata Baermann.....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 22: Procediment del mètode de Griesse.....</i>	<i>23</i>
<i>Figura 23: Pouets entomològics per a la fixació dels nematodes del sòl Segons el mètode de Grisse.....</i>	<i>23</i>

<i>Figura 24: Larves de G. mellonella mortes per nematodes entomopatògens (esquerra) i vives (dreta).....</i>	<i>24</i>
<i>Figura 25: Gràfic de representació de la mitjana de la densitat de nematodes fitoparàsits segons el tipus de gestió del cultiu i fondària del sòl.....</i>	<i>28</i>
<i>Figura 26 : Gràfic de representació de la mitjana de la densitat de nematodes fitoparàsits segons el tipus de gestió del cultiu i fondària del sòl.....</i>	<i>28</i>
<i>Figura 27 : Imatges d'alguns dels gèneres de nematodes fitoparàsits identificats.....</i>	<i>29</i>
<i>Figura 28: Densitat de nematodes lliures i fitoparàsits respecte els diferents tipus de gestió del sòl.....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 29: Densitat de nematodes lliures i fitoparàsits respecte els diferents tipus de gestió del sòl.....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 30: Gràfic de la respiració del sòl en blau mesurat al laboratori a diferents fundàries, rosa respiració en camp a 20 cm. i groc a 40 cm.....</i>	<i>31</i>
<i>Figura 32 : Gràfic de precipitacions (mm) des del primer mostreig fins el segon.....</i>	<i>32</i>
<i>Figura 33: Gràfic de temperatures (°C) des del primer mostreig fins el segon.....</i>	<i>33</i>
<i>Figura 34 : Gràfic de representació de la proporció de nematodes lliures i fitoparàsits segons el tipus de gestió del cultiu i estació de l'any.....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 35: Gràfic de representació de la proporció de nematodes lliures i fitoparàsits segons el tipus de gestió del cultiu i profunditat del sòl.....</i>	<i>35</i>
<i>Figura 36: Taula de identificació de fongs, nematodes i bacteris entomopatògens dels diferents gestió de cultius (C: Convencional; E: Ecològic; B: Biodinàmic) en els dos mostresos realitzats.....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 37: Fong Fusarium creixement en placa (esquerra) i vist amb microscopi (dreta).....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 38: Nematodes entomopatògens trobats en les mostres de sòl (gènere Steinernema).....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 39: Mapa dels llocs de mostreig dels nematodes entomopatògens de Catalunya.....</i>	<i>42</i>





<i>Taula 1: Recompte i identificació de gèneres de nematodes fitoparàsits per cada tipus de gestió en 500 cm<sup>3</sup> de sòl.....</i>	<i>26</i>
<i>Taula 2: Relacions entre la densitat de nematodes en el sòl amb el nivell de dany estimat en la vinya Vitis vinífera.....</i>	<i>41</i>

<b>1. Introducció.....</b>	<b>1</b>
1.1. Gestió dels cultius i pràctiques.....	2
1.1.1. Cultiu convencional.....	2
1.1.2. Cultiu ecològic.....	3
1.1.3. Cultiu biodinàmic.....	4
1.2. Nematodes.....	6
1.2.1. Característiques generals.....	6
1.2.2. Principals gèneres fitoparàsits en vinya.....	9
1.2.3. Síntomes induïts per els nematodes en les plantes.....	10
1.2.4. Control.....	12
1.2.5. Nematodes entomopatògens.....	12
1.3. Fongs entomopatògens.....	14
1.3.1. Característiques generals.....	14
1.3.2. Fongs comuns en el sòl.....	15
<b>2. Objectius.....</b>	<b>18</b>
<b>3. Material i mètodes.....</b>	<b>19</b>
3.1. Localització i característiques de les parcel·les.....	19
3.2. Mostratge.....	19
3.3. Extracció de nematodes del sòl, comptatge i determinació.....	21
3.4. Aïllament i determinació de nematodes i fongs entomopatògens.....	24
3.5. Estimació de la respiració del sòl en condicions controlades.....	25
3.6. Tractament de les dades.....	25
<b>4. Resultats.....</b>	<b>26</b>
4.1. Identificació i recompte de nematodes fitoparàsits entre els diferents tipus de gestió del sòl.....	26
4.2. Fluctuació de la densitat de nematodes fitoparàsits i lliures.....	30
4.3. Localització i identificació de fongs i nematodes entomopatògens en els diferents punts de mostreig de les parcel·les de cultiu convencional, ecològic i biodinàmic.....	34
<b>5. Discussió.....</b>	<b>39</b>
<b>6. Conclusions.....</b>	<b>43</b>
<b>7. Annexos.....</b>	<b>44</b>
<b>8. Bibliografia.....</b>	<b>49</b>



## 1. INTRODUCCIÓ

Espanya és el primer país productor del món i amb la major extensió de vinyes del món representant aproximadament un 30% de la superfície total de la UE i un 14% mundial. Actualment Itàlia és el país líder en vins ecològics, però Espanya experimenta el major creixement. En els últims cinc anys s'ha duplicat la superfície vitivinícola ecològica i segueix incrementant-se. En l'any 2008 ja són més de 12.000 hectàrees, i algunes cooperatives també es dediquen cada vegada més, als vins ecològics. En particular s'han convertit grans superfícies en a La Manxa, el Centre, Llevant i l'est del país. Les comarques més importants de vi ecològic es concentren a la Manxa, Jumilla, Alacant, El Penedès i La Rioja. Dins dels anomenats vins ecològics estan els vins biodinàmics amb pràctiques molt més estrictes. Mitjançant procediments lliures de químics, els seus fruits tenen més sabor i en conseqüència, protegeixen igualment la salut dels consumidors així com el medi ambient. L'objectiu de la agricultura biodinàmica és aconseguir el coneixement i control dels cicles biològics de cada cultiu i amb el seu sistema de fertilització orgànic-biodinàmic proporcionar elements nutricionals, una millora en la qualitat i protecció contra plagues i malalties (verema.com, 2008). L'estudi de la nematofauna serveix no només per a determinar el potencial risc de danys que pot patir el conreu per part dels fitoparàsits, sinó també com a indicador de la salut del sòl. "L'índex de maduresa" de la nematofauna pot proporcionar informació útil sobre l'estat d'un sòl. La diversitat de nematofauna en els agrosistemes i les seves relacions en el processos del sòl són possibles bioindicadors però el conjunt dels efectes de les plantes, tipus de sòl i nematodes pot estar un indicador encara millor (G.W.Yeates, T.Bongers, 1995). Algunes pràctiques en els cultius són claus per la salut del sòl, hi ha estudis que ho demostren; L'abundància de depredadors dels nematodes en el sòl se'ls relaciona amb el  $\text{NH}_4^+$ , probablement degut a productes d'excreció d'altres microorganismes i/o introduïts per l'agricultor. Xarxes tròfiques més altes en el sòl poden tenir un paper en la supressió de paràsits de plantes i que afectin a la dinàmica de nutrients, així doncs, s'ha demostrat que en àrees naturals les xarxes tròfiques en el sòl són més llargues i complexes ( Sanchez-Moreno i Ferris, 2007). Els contaminants aplicats en el sòl (químics de síntesi) i els xocs de calor per a la desinfecció del sòl, tenen efectes negatius sobre les espècies, ja que es produeix una pèrdua de diversitat biològica (A. W. G. Van Der Wurff, S. A. E. Kools, M. E. Y. Boivin, P. J. Van Den Brink, H. H. M. Van Megen, J. A. G. Riksen, A. Doroszuk, i J. E. Kammenga, 2007).

A l'estat espanyol no s'ha realitzat cap estudi en referent a aquest tema, per tant aquest estudi és un preludi a un estudi a llarg termini per a saber quin és l'impacte de la gestió del sòl.

## **1.1. Gestió dels cultius i pràctiques**

### **1.1.1. Cultiu convencional**

La gestió del sòl agrícola està condicionada per el sistema de producció que es dugui a terme. En el cultiu convencional es fan servir les pràctiques de cultiu tradicionals, sense tenir en compte cap restricció específica tret de les de tipus legislatiu.

### **1.1.2. Cultiu ecològic**

L'agricultura ecològica, és un sistema per cultivar una explotació agrícola autònoma basada en la utilització òptima dels recursos naturals, sense fer servir productes químics de síntesis, o organismes genèticament modificats (OGMs) ni per fertilitzar ni per controlar plagues o malalties. D'aquesta forma s'obtenen aliments orgànics alhora que es conserva la fertilitat de la terra i es respecta el medi ambient. Totes les pràctiques realitzades d'una manera sostenible i equilibrada.

Els principals objectius de l'agricultura ecològica són: treballar amb els ecosistemes d'una forma integrada; mantenir i millorar la fertilitat del sòl; produir aliments lliures de residus químics; utilitzar el major nombre de recursos renovables i locals; mantenir la diversitat genètica del sistema i del seu entorn; evitar la contaminació com a conseqüència de les tècniques agràries; permetre als agricultors que realitzin el seu treball d'una forma saludable.

El cultiu ecològic es basa en mètodes preventius, potencien el bon desenvolupament de les plantes i per tant la seva resistència natural a les plagues i malalties. S'ha d'evitar el cultiu d'una única espècie, al diversificar les espècies plantades es dificulta l'aparició de plagues, utilitzant amb aquest fi una adequada rotació y associació en els camps.

El control de plagues i malalties es de manera preventiva, com ja s'ha esmentat abans sense fer servir productes químics de síntesi, llevat de feromones, atraients o repel·lents, que no són aplicats directament sobre la planta. La fertilització en l'agricultura ecològica no nodreix directament la planta, sinó que es tracta d'estimular el conjunt sòl-planta mantenint o millorant la fertilitat del sòl afavorint els complexos del sòl i els seus microorganismes. Pel que fa als adobs minerals només es poden utilitzar els que procedeixin de fonts naturals i que hagin sigut extret per mitjà de mètodes físics.

Avui dia, els vins ecològics estan agafant cada cop més força; Itàlia té la major superfície de vinya al voltant de 30.000 hectàrees seguit de França i Espanya amb la meitat d'aquesta xifra, on s'ha experimentat forts increments al llarg dels últims anys.

(Wikipedia, 2008 i Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, 2008).

### **1.1.3. Cultiu biodinàmic**

L'agricultura biodinàmica creu que la terra, les plantes, els animals i l'ésser humà treballen interconnectats en un únic organisme agrícola. El seu origen es troba en una sèrie de conferències impartides en 1924 per Rudolf Steiner, un filòsof i científic austríac que va crear un moviment espiritual denominat "antroposofia".

En la pràctica, la biodinàmica utilitza medis naturals i sostenibles per els seus cultius, similars als de l'agricultura ecològica i orgànica, com rotacions de cultius ben pensades, compostatge elaborat amb adob de la granja, control de males herbes i malalties utilitzant materials basats en plantes i minerals, etc.

Per altra banda, els agricultors biodinàmics creuen en una sèrie de valors esotèrics més propis de la alquímia medieval o de la astrologia. Els seus defensors creuen en l'existència de ritmes, forces i energies "còsmiques" que influeixen en tots els éssers vius. En aquest sentit, un dels seus mètodes, conegut com a "dinamització", consisteix en una sèrie de preparats que inclouen l'enterrament de banyes de vaca omplertes d'adob o la reducció d'insectes a cendres.

A més, els signes del zodíac i la posició de segons quins astres determinen els millors moments per realitzar les sèmbras o treballs de cultiu. Per aquest fet, els seus defensors tenien preocupacions en part per la gran quantitat d'eclipses que es van produir en el 2007, tant els lunars com els dels altres planetes del Sistema Solar.

En Espanya, els agricultors biodinàmics es recolzen amb una associació en la que expliquen els fonaments d'aquesta forma de cultivar el sòl, i ofereixen una sèrie de llibres i revistes per a poder conèixer més sobre el tema. Així mateix, ofereixen un llistat de productors i distribuïdors, i persones de contacte per a poder aconseguir els seus preparats especials.

(Asociación de Agricultura Biodinàmica de España, 2006).

## Preparats biodinàmics

Les condicions on es produeixen els preparats són tant importants com les parts que constitueixen. La majoria dels materials necessiten el cicle complet de l'any per poder "madurar".

Les dues parts, vegetal i animal, s'utilitzen en l'elaboració dels preparats es per això que algunes persones ho comparen amb l'alquímia medieval. Els preparats es coneixen per els números del 500 al 508, per les substàncies o plantes que s'apliquen en la seva elaboració.

És molt recomanable que els preparats biodinàmics s'elaborin en la pròpia finca agrícola sempre que sigui possible, ja que es llavors quan verdaderament funcionen com a part integrant del mateix organisme viu que el constitueix.

Pel que fa als preparats biodinàmics més freqüents que es fan servir són els següents:

- Preparat de bonyiga (500)

A principi de la tardor s'omplen les banyes de vaca (que hagin tingut més d'un part) amb l'adob sense palla, preferiblement de vaques prenyades, de manera que no quedin espais lliures d'aire en el seu interior. S'enterren fins la primavera en el sòl de prats o farratge que contingui una bona capa d'humus. S'ha d'evitar els sòls pantanosos, els sòls amb arrels d'arbres i fer aquest procediments a prop de murs, camins o franges. El contingut es treu i s'emmagatzema en un lloc sec, en un calaix rodejat de turba rossa. Les banyes poden tornar-se a fer servir.



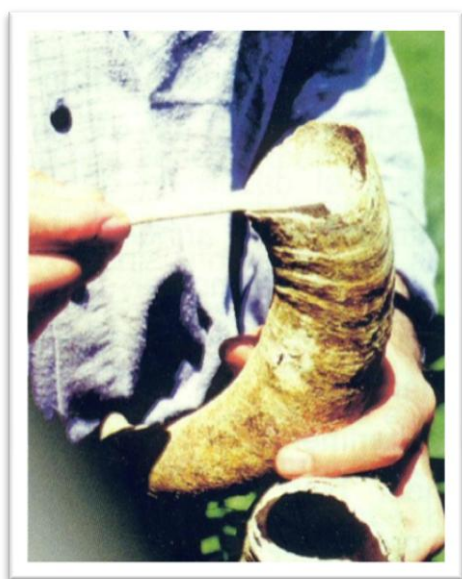
**Figura 1 : Banyes en el preparat de bonyiga (500)**

**Font: Asociación de agricultura biodinámica en España, 2008.**



- Preparat de sílice (501)

Després de Setmana Santa, el quars es trinxa fins a deixar-ho com una pasta fina. Es fa una mescla amb aigua de pluja per aconseguir una pasta densa i s'introdueix en la banya deixant-ho escorre uns dies. Les banyes s'enterren durant l'estiu i es treuen al final de setembre o a principis d'octubre. Es treu el contingut per emmagatzemar-lo en un pot de vidre en un lloc sec i solejat. Les banyes d'aquest preparat no és recomanable que siguin reutilitzades.



**Figura 2 : Banya en el preparat de sílice (501)**

**Font: Asociación de agricultura biodinámica en España,2008.**

Segons Steiner, els preparats de bonyiga en banya i el de quars en banya, afectaran a la dinàmica del creixement de la planta en tot el seu cicle. Els dos preparats s'han de remoure enèrgicament amb aigua tèbia de manera que amb el moviment es formi un remolí, intercanviant durant una hora el sentit de gir. Aquests dos preparats són per ruixar.

A l'agricultura biodinàmica també s'utilitzen preparats per el compostatge. S'utilitzen 6 plantes "sanadores" que són les següents: preparació de Milenrama (Preparat 502), preparació de Camamilla (Preparació 503), Preparació d'Ortiga (Preparació 504), Preparació d'Escorça de Roure (Preparació 505), Preparació de Dent de Lleó (Preparació 506), Preparació de Valeriana (Preparació 507) i Preparació de Cua de Cavall (Preparació 508).

Un altre fitosanitari senzill per a fruiters és el silicat de sodi que és eficaç contra l'aranya roja i pugons. Amb aquest també es pot barrejar les infusions de varies plantes: *Artemisa absinthium*, *Tanacetum vulgare* i l' *Allium fistulosum* (Asociación de Agricultura Biodinámica de España,2006)

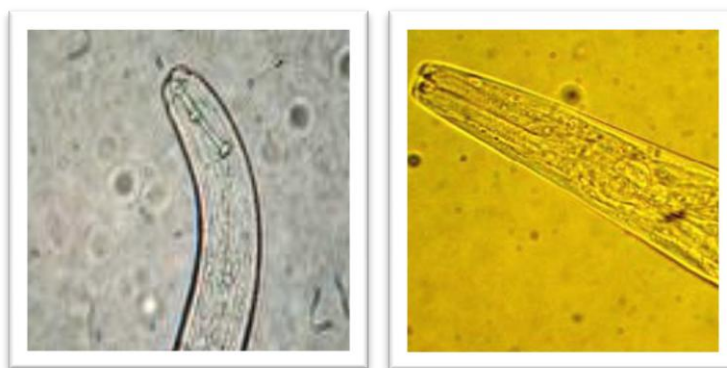
## 1.2. Nematodes

### 1.2.1. Característiques generals

Els nematodes són cucs pseudocelomats amb forma de fil (del grec Nema=fil) amb més de 25.000 espècies registrades, és el quart en nombre d'espècies del regne animal. Existeixen espècies de vida lliure, marins, en el sòl, i espècies paràsites de plantes (nematodes fitoparàsits) i animals, inclòs l'ésser humà, que provoquen malalties com la triquinosis, filariosis, anquilostomiasis, etc (biblioteca.universa.net, 2008). En el sòl ocupen totes les xarxes tròfiques i d'aquí la seva importància com a bioindicadors en sistemes agrícoles, donat que poden afectar al conreu fins a provocar importants pèrdues de producció.

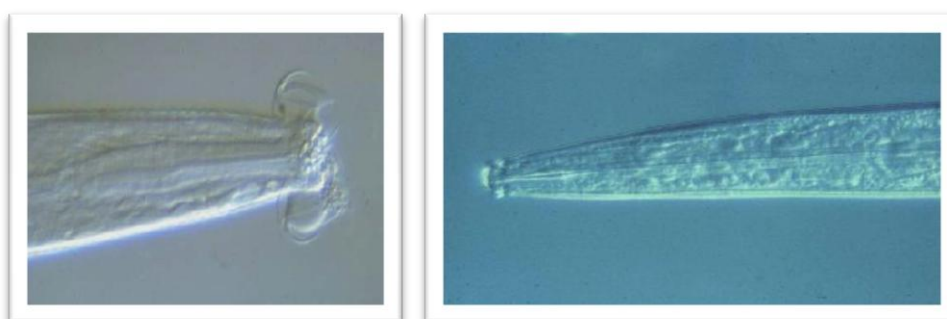
La majoria dels nematodes son vermiformes (forma de cuc) durant l'estat juvenil i adult, excepte alguns sedentaris, en els quals la femella adulta adquireix una forma diferent que va des de reniforme (forma de ronyó) com el gènere *Rotylenchulus*, a piriforme (forma de pera) com el gènere *Meloidogyne*, fins gairebé esfèric com el cas del gènere *Globodera*. La cavitat del cos es un pseudoceloma: els òrgans interns, digestius, excretors i reproductors, són bàsicament tubs tancats per la paret del cos. El canal alimentari és un tub llarg que va de la cavitat bucal anterior anomenada estoma, passa per l'esòfag, l'intestí, el recte i acaba en l'anús, situat en la part posterior del nematode.

Els nematodes fitoparàsits tenen en l'estructura de l'estoma una estructura en forma de llança, anomenada estilet, amb el que poden foradar les cèl·lules de l'hoste i alimentar-se. Els nematodes entomopatògens, en canvi, es caracteritzen per tenir bactèries en l'esòfag les quals pot transmetre a insectes provocant la seva mort. Els nematodes de vida lliure s'alimenten de bactèries, llevats, hifes de fongs i algues, i poden ser saprozoics o coprozoics, les espècies depredadores poden menjar rotífers, tardígrads, petits anèl·lids i altres nematodes. Per tant, l'aparell bucal del nematodes de vida lliure estarà adaptat segons sigui la seva alimentació.



**Figura 3: Estoma de nematode fitoparàsit i entomopatògen.**

**Font: ESAB -UPC. i CIAT, 2008.**



**Figura 4: Nematodes lliures; un s'alimenta de bacteries i l'altre de fongs.**

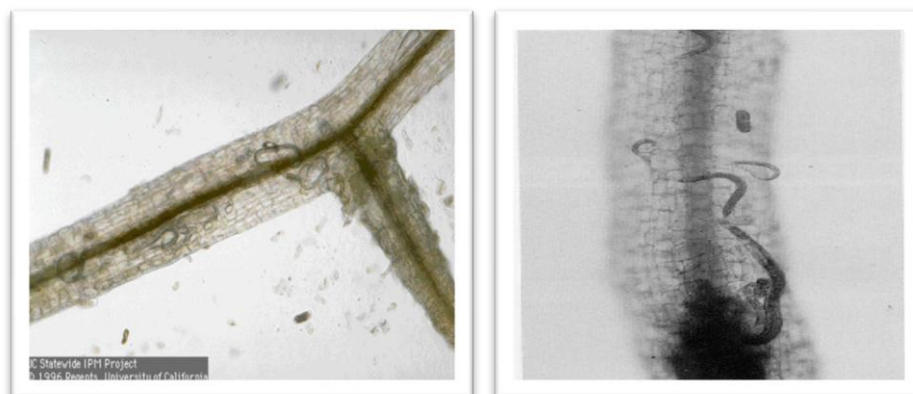
**Font: ECOPLEXIT, 2008.**

Els nematodes poden sobreviure entre sembra i la següent en altres hostes o en estats de baixa activitat metabòlica, tot i que hi ha excepcions; en el cas de l'*Heterodera glycines*, on aquesta té una gama d'hostes més limitada, la femella mort i es converteix en una estructura dura, plena d'ous, anomenada quist, que pot mantenir-se viable per alguns anys. En tot cas, amb l'absència d'hostes els nematodes poden sobreviure períodes de setmanes o mesos en estats de baixa activitat metabòlica, com el repòs. Aquest estadi de repòs es poden induir per manca d'aigua, alta concentració de sals, falta d'oxigen, baixa o alta temperatura.

Els nematodes naden fins les arrels atrets per els exsudats d'aquestes. Només es desplacen alguns centímetres per any, per tant la disseminació a llarga distància és produïda per transport en el sòl (per mitjà de maquinària, material, etc.) o de material vegetal infectat.

Una vegada en les arrels de la planta els nematodes introdueixen el seu estilet i injecten fluïts que modifiquen el citoplasma de les cèl·lules. Alguns s'alimenten de la epidermis i el dany produït es limita a les cèl·lules on el nematode s'ha alimentat. Altres

s'alimenten de teixits subepidèrmics i poden modificar la fisiologia dels teixits atacats i poden induir al hoste a forma estructures especials que els facilitin l'alimentació. També podem trobar altres que s'alimenten de les cèl·lules corticals, causant la mort de les cèl·lules atacades, on es produeix una extensa destrucció dels teixits i altres envaeixen les arrels en forma intracel·lular o intercel·lular i un cop s'estableixen en el lloc d'alimentació formen estructures especials per crear un clima metabòlicament adient. Aquestes estructures atrauen nutrients i els nematodes s'aprofiten d'aquest fet.



**Figura 5 : Nematodes en les arrels.**

**Font: UC Statewide IPM Project. R.University of California, 1996.**

Es reproduïxen sexualment involucrant els dos sexes o partenogenèticament. La relació de mascles i femelles està influenciada per l'ambient; si hi ha escassetat d'aliment la proporció de femelles es redueix. La femella adulta mor després de posar els ous. Els mascles normalment són més petits i viuen menys temps que les femelles.

La majoria de nematodes fitoparàsits completen el seu cicle en 3 a 4 setmanes, depèn de les temperatures, des de l'estat de l'ou fins l'aparició d'ous de la següent generació. En algunes espècies aquest cicle pot durar fins a dos anys.

El cicle comprèn l'estat d'ou dins el qual es desenvolupa el primer estat juvenil (j1), seguit de tres estadis juvenils més, (j2, j3 i j4), i l'estat adult. Els diferents estats estan separats per mudes, en les quals l'organisme secreta una nova cutícula i surt de la cutícula vella.

(Wikipedia, 2007 i Tamayo, 1999)

### 1.2.2. Principals gèneres fitoparàsits en vinya

Els nematodes fitoparàsits associats a la vinya pertanyen a més de 10 gèneres, però no són més de 5 els que poden causar danys importants en el cultiu. Les majors preocupacions les causen principalment els nematodes dels gèneres *Xiphinema* i *Meloidogyne*, sobre els quals reben més atenció que altres a l'hora de trobar mesures de control ja que causen un dany significant en l'economia perquè aquests afecten a la seva productivitat o/i qualitat. Hi ha altres gèneres o espècies que apareixen en forma recurrent en els anàlisis nematològics i en algun cas en nivells alts, ja sigui com a grup majoritari, o associat amb els gèneres de major agressivitat. Un d'aquests grups correspon al nematode de cítrics, *Tylenchulus semipenetrans*, el qual és un paràsit primari de la vinya. Això és de gran importància quan es treballa amb portaempelts, ja que quasi la totalitat d'aquests presenten resistència més o menys específica a un gènere, inclús a una espècie o raça de nematode.

Hi ha molts nematodes fitoparàsits que són paràsits de la vinya com per exemple els *Tylenchus* i *Tylenchorhynchus*. Hi ha gèneres com el *Xiphinema spp.*, que acurten les arrels, causen la formació d'inflamacions i gal·les. El més important és el *X. index* la qual és un vector del virus "*Grapewine Fanleaf Virus* " (GFLV) de la vinya. *Xiphinema index* també pot causar ferides directes en les arrels i així facilitar el pas d'altres malalties. Els països més perjudicats per aquest nematode són Itàlia, Califòrnia, Israel i França (Nicol, 1999).

El gènere *Meloidogyne spp.*, infecta el còrtex de les arrels i forma gal·les. Les espècies més importants a destacar per el cultiu de la vinya són; *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla* i *M. arenaria*, tot i que no és fàcil la identificació de les espècies de *Meloidogyne* i la virulència d'una espècie o una altre també dependrà de l'àrea geogràfica en la qual es trobin.

El gènere *Pratylenchus spp.*, entren en les arrels de la planta per alimentar-se i es situen en teixit cortical. Les lesions provocades per aquest gènere, adquireixen un color vermell fosc o marró a causa de la necrosis que envaeix les cèl·lules de la planta. Les espècies més perjudicials en la vinya són: *P. vulnus*, *P. neglectus*, *P. scribneri*, *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. pratensis*, *P. macrodurus* i *P. Jordanensis*.

(Nicol, 1999)

El control en el treball en el sòl és molt important per tal de no afavorir la proliferació dels nematodes fitoparàsits. Segons el tipus de gestió del sòl també pot diferenciar l'estat del sòl de la vinya en aquest aspecte; en un cultiu convencional on s'utilitzen químics sintètics per prevenir diferents malalties, poden tenir una repercussió indirecte sobre la població de

nematodes. Aquesta població també es veuria afavorida o repercutida per les pràctiques utilitzades en cultius amb manca de tota mena de químics sintètics com ara el cultiu ecològic i el biodinàmic. En aquest últims tipus de cultiu, a més es fan servir pràctiques que poden afavorir d'una manera molt més abundant la microfauna existent en el sòl, i d'aquesta manera, pot afectar d'una forma secundària al conjunt de nematodes en el sòl.

Les poblacions dels nematodes varien constantment. De la mateixa manera, la composició comunitària dels nematodes existent en el sòl també es modifica amb el temps, depenent del tractament del terreny i de l'edat dels individus. Així, per exemple, els paràsits de les plantes varien en quantitat com resposta a la presència o absència del seu hoste (augmentant durant el cultiu de les plantes y disminuint un cop que aquests han sigut recol·lectades).

Les poblacions de nematodes són inferiors en hivern i a principis de primavera en climes temperats, així com a l'estiu i a la tardor en climes més càlids. Una escassa població en les capes més superficials del sòl, pot indicar simplement que els nematodes s'han internat més profundament en el sòl per escapar de les inclemències d'aquest.

Des de un punt de vista ecològic, la majoria dels nematodes regulen les poblacions microbianes mitjançant la depredació, i una minoria actua com a paràsits de les plantes. De fet, serveixen com enllaç en la cadena alimentària entre el món microbià i organismes més complexos. Les poblacions de nematodes reflecteixen la disponibilitat de matèria orgànica en la que habiten i les més escasses normalment estan en els deserts (en els quals trobarem poca matèria orgànica), arribant a nivells més elevats en zones fangoses permanents (amb rizosferes molt desenvolupades). En els cultius ecològic i biodinàmic és manté molt més aquest equilibri ecològic entre totes les espècies de l'ecosistema, on els depredadors naturals dels nematodes fitoparàsits (sovint altres nematodes) poden estabilitzar les poblacions i d'aquesta manera, controlar els danys i pèrdues causades per aquests en els cultius.

(Tamayo,1999).

### **1.2.3. Síntomes induïts per els nematodes en les plantes**

Els símptomes poden dividir-se en aeris i subterranis. Els nematodes que infecten les arrels causen símptomes semblants a deficiències nutricionals o hídriques en la part aèria. Ens trobem amb plantes de poc creixement, cloròtiques que poden presentar defoliació, marciment o bolcament. En les arrels es poden trobar lesions necròtiques (exemple *Radopholus*, *Pratylenchus*) , arrels deformes amb agalles (*Meloidogyne*), arrels engrossades, curtes, regirades (*Xiphimema*, *Trichodorus*) o producció excessiva d'arrels secundaries



(*Heterodera*). Quan l'atac es presenta en parts aèries pot haver-hi necrosi en el fullatge (*Aphelenchoides*), lesions necròtiques en bulbs i talls (*Ditylenchus*), agalles en flors (*Anguina*) i necrosis del xilema i marciment en plantes llenyoses (*Bursaphelenchus*). En alguns casos es poden observar signes externs del nematode, com masses d'ous en *Tylenchulus* o quists en *Heterodera* i *Globodera*.

En general, el dany que causen els nematodes en el rendiment del cultiu es proporcional al nivell de població del nematode. Existeix un nivell de tolerància, que és la quantitat de nematodes que el cultiu pot suportar sense patir grans danys per tal que afecti el rendiment. Si la població augmenta per sobre d'aquest nivell, el rendiment decreix fins a un mínim.

A part del dany directe, els nematodes poden augmentar el grau d'atac d'altres patògens.



**Figura 6: Taques foliars produïdes per l'atac de nematodes.**



**Figura 7 : Síntomes en arrels per atac de nematodes.**

**Font: UC Statewide IPM Project (U. Of California), 2008.**

Per tots aquest motius es important disposar d'un coneixement bàsic que contribueixi a millorar la qualitat dels cultius i evitar la disseminació de nematodes a noves àrees.

El control dels cultius des del punt de vista de la protecció vegetal es molt important, ja que després de la inversió inicial que es realitza per establir-lo, requereix d'una vigilància permanent i d'una curosa implantació d'un maneig integrat de plagues i malalties. Això evita que les agents patogènics s'estableixin en el cultiu i redueixin, tant la quantitat com la qualitat dels fruits a produir.

(Suárez i Rosales, 1990)

#### **1.2.4. Control**

Per tal de controlar la presència de nematodes en el cultiu, és important fer adequadament totes les pràctiques que el desenvolupament del treball impliquin:

Desinfectar el sòl en els vivers: aquesta és una pràctica molt importat, ja que la majoria dels problemes per fitoparàsits s'inicien en aquest llocs. Els mètodes poden ser entre altres: a) físics: vapor i b) químics. Selecció de material lliure de nematodes: es recomanable que el material estigui sa, ja que no hi ha un mètode de control que sigui 100% eficient. De la adequada selecció del material, dependrà el futur de la plantació. L'ús de material resistent: p.e. en cítrics els portaempelts de *Poncirus* i els seus híbrids han demostrat resistència, m'entres que els materials provinent del gènere *Citrus* han resultats susceptibles al nematode del cítrics. Pràctiques culturals: la fertilització i el reg són importants per que la planta tingui un bon desenvolupament. L'ús de productes químics: aquest seria el mètode de control que pot aplicar-se en plantacions establertes.

(Suárez i Rosales, 1990)

#### **1.2.5. Nematodes entomopatògens**

El gènere de nematodes entomopatògens que hi predomina a Catalunya es el *Steinernema*. Hi ha certs indrets però on s'ha trobat presència d' *Heterorhabditis* com Barcelona i Gavà. (Garcia del Pino i Palomo, 1996). Altres llocs d'Espanya estudiats també ha sigut predominant el gènere *Steinernema* com és el cas del nord d'Espanya (Campos-Herrera, 2007)

En el cas dels nematodes entomopatògens el cicle és molt diferent:



Els IJ (infectius juvenils) tenen capacitat per buscar un hoste (insecte), una vegada trobat, penetren en el seu interior per mitjà orificis naturals com ara boca, anus o espiràculs. Un cop arriben a la hemolimfa de l'insecte, alliberen les seves bactèries que causen la mort de l'insecte per septicèmia (infecció generalitzada) en un període d'aproximadament 2 dies. Les bactèries, alhora que es van multiplicant, produeixen condicions favorables per l'alimentació dels nematodes, que alhora requereixen la presència de la bactèria simbiòtica per reproduir-se i completar el seu cicle. A més dels aportos nutricionals que la bactèria proporciona al nematode, aquesta produeix antibiòtics i bacteriocines que impedeixen l'entrada d'organismes oportunistes en el cadàver de l'insecte. També entre els metabòlits produïts per la bactèria es troben compostos tòxics per alguns nematodes fitopatògens.

Els nematodes es desenvolupen dins l'hoste fins l'estat adult i es reproduïxen dins el cadàver. Quan els nutrients s'acaben, el cicle acaba en l'estadi J1, que incorpora les bactèries per d'aquesta manera emigrar del cadàver buscant un nou hoste.



**Figura 8 : Larves de *G.mellonella* infectades per nematodes.**

**(Font: CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), 2008.)**

El cicle de vida dels nematodes lliures és curt, són ovovivípars, es a dir, els ous continuen el seu desenvolupament en l'úter fins a l'estat juvenil, quan són expulsats per mitjà de les gònades. La maduresa sexual en la femella comença entre el tercer i el quart dia de la nascuda arribant a produir de 10 a 40 individus cada 24 o 72 hores per un període de 10 a 25 dies.

(El Centro de Tesis, Documentos, Publicaciones y Recursos Educativos más amplio de la Red, 1997)

### 1.3. Fongs entomopatògens

Els fongs entomopatògens també són una part important dels processos del sòl. La quantitat de fongs entomopatògens presents en el sòl estaran amb competència amb els nematodes entomopatògens però, alhora, aquests secreten compostos químics que dissolen minerals i alguns nematodes lliures i altres organismes poden disposar de nutrients. És per aquest motiu, que pot afectar tant directe com indirectament la població de nematodes present en el sòl. Evidentment, el tipus de gestió del sòl també repercuteix en la quantitat de fongs en el sòl.

#### 1.3.1. Característiques generals

Són organismes heteròtrofs que posseeixen cèl·lules quitinitzades, normalment no mòbils. La dispersió de les espores es realitza per contaminació ambiental a través del vent, pluja i inclús individus malalts al tenir contacte amb altres sans.

L'inici de la infecció es realitza per germinació de les espores del fong sobre el tegument de l'individu (hoste). Les unitats infectives penetren en el cos de l'insecte, produint desequilibris a nivell digestiu, nerviós, muscular, respiratori, excretori, etc.; es a dir, l'insecte deixa d'alimentar-se i posteriorment mor. La mor es pot donar als tres o cinc dies, depenent de la virulència del fong i l'estadi de l'insecte. Normalment són espècies específiques o d'ampli rang d'hostes (insectes i àcars). El fong surt del insecte a través de les obertures naturals del cos (boca, anus, orificis d'unió dels teguments...) i en l'exterior forma estructures fructíferes i espores.

Els individus malalts no s'alimenten, presenten debilitat i desorientació i canvien de color, presentant taques fosques sobre el tegument, que corresponen amb les espores germinades del fong. Aquests requereixen una adequada humitat, pH i temperatura per la seva natural dispersió i infecció, depenent de l'espècie de cada fong.

Normalment, els fongs, són entomopatògens d'acció lenta si es comparen amb els químics.

Els fongs entomopatògens posseeixen extrema importància en el control de ectoparàsits, virtualment tots els ectoparàsits són susceptibles a les malalties fúngiques i

existeixen aproximadament 700 espècies de fongs entomopatògens, i al voltant de 100 gèneres.

Dins de les més importants trobem: *Metarhizium spp*, *Beauveria spp*, *Aschersonia spp*, *Entomophthora spp*, *Zoophthora spp*, *Erynia spp*, *Eryniopsis spp*, *Akanthomyces spp*, *Fusarium spp*, *Hirsutella spp*, *Hymenostilbe spp*, *Paecilomyces spp* y *Verticillium spp*, pertenecientes a la clase Zygomycetes e Hyphomycetes (López i Hans Börjes, 2001).

Els fongs entomopatògens posseeixen la capacitat de sintetitzar toxines que són utilitzades en el cicle de les relacions patogen-hoste. L'estudi d'aquesta toxina (dextruxinas, demetildestruxina i protedextruxina) és de molta importància ja que es poden sintetitzar productes químics de baixa toxicitat i d'elevada acció insecticida, acaricida i nematocida.

(Ministerio de Agricultura SENASA,2008)

### 1.3.2. Fongs comuns en el sòl

*Fusarium* : És un extens gènere de fongs filamentosos àmpliament distribuït en el sòl i en associació amb les plantes. La majoria de les espècies són sapròfites i són uns membres relativament abundants de la microbiota del sòl. Les espores del fong són fàcilment reconegudes al microscopi per la seva forma de mitja lluna o de canoa. Algunes espècies produeixen micotoxines en els cereals i que poden afectar a la salut de les persones i animals si aquestes entren en la cadena alimentària. La principal toxina produïda per aquestes espècies de *Fusarium* són fumonisinas i tricothecenos. Són patògens facultatius, capaços de sobreviure en l'aigua i el sòl alimentant-se de materials en descomposició. Són importants agents de contaminació en els laboratoris de microbiologia.



**Figura 9 : *Fusarium verticillioides***

**Font: Wikipedia, 2008.**



**Figura 10: *Fusarium* en fruit**

**Font: Avindustrias, 2008.**

*Beauveria bassiana*: És un fong que creix naturalment en sòls de tot el món i actua com un paràsit sobre diferents espècies d'insectes, causant la malaltia blanca muscardine; pertany als fongs entomopatògens. Es utilitza com un insecticida biològic controlant a un bon nombre de paràsits com tèrmits, diferents escarabats, mosquits que transmeteixen malària, etc.



**Figura 11 : *Beauveria bassiana***

**Font: Micology Online, 2008.**



**Figura 12: *Beauveria* en insecte**

**Font: INTA, 2008.**

*Penicillium*: Les espècies de *Penicillium* són reconegudes per la seva densitat cepellar com les estructures del espóra-coxinet. Els conidiòfors són simples o ramificats i són terminats per rams de fials en forma d'ampolla. Les espores es produeixen en cadenes seques de les extremitats dels fialides, i quasi bé sempre són verdes. La ramificació és la característica més important per identificar l'espècie de *Penicillium*. És un gènere gran i difícil que es troba per quasi tot arreu, generalment el gènere més abundant es troba en els sòls.



**Figura 13 : *Penicillium digitatum***

**Font: Crónica Rural, 2008.**



**Figura 14: *Penicillium* en taronja**

**Font: Infojardín, 2008.**

*Alternaria*: És un gènere d'ascomicet de fong. Moltes espècies d'*Alternaria* són conegut com els principals patògens de plantes. Hi ha definides 44 espècies però poden haver-hi moltes més. Són omnipresents en el medi ambient i són una part natural de la flora fúngica en quasi totes parts. Les espores estan en suspensió en l'aire i es troben en el sòl i en l'aigua, així com en objectes, etc. Les espores formen cadenes llargues i les colònies poden créixer i formar gran densitat que normalment adquireix una tonalitat fosca, negra o gris. Al menys el 20% dels productes agrícoles es troben contaminats per espècies d'*Alternaria* però no totes les espècies són plagues i agents patògens, sinó que alguns s'han utilitzat com a agents de control biològic contra espècies de plantes invasores.



**Figura 15: *Alternaria* spp.**

**Font: Botany.utoronto, 2008.**



**Figura 16: *Alternaria* en fulla**

**Font: Via Rural, 2008.**

(El Centro de Tesis, Documentos, Publicaciones y Recursos Educativos más amplio de la Red, 1997 i Wikipedia, 2008)



## 2. OBJECTIUS

L'objectiu del treball va ser determinar l'efecte de l'aplicació de biopreparats en el sistema de producció biodinàmic sobre la composició i abundància de la nematofauna fitoparàsita i lliure, i de fongs entomopatògens i contrastar-la amb la estimada en els sistemes de producció convencional i ecològic.

### 3. MATERIAL I MÈTODES

#### 3.1. Localització i característiques de les parcel·les

L'estudi es va realitzar a les finques Can Romeu, de l'empresa Caves Recaredo, i Els Casots, propietat del Sr. Josep Esteve. Les finques són adjacents i estan situades a la comarca de l'Alt Penedès (província de Barcelona) entre les coordenades 397400,0 UTM i 397750,0 UTM de latitud nord i 4583000,0 UTM i 4589900,0 UTM de longitud est (Figura 17). Les finques estan plantades amb el cultivar Parellada sobre R110. El sistema d'explotació de la finca Can Romeu és una part ecològic (0,10 ha), i l'altra biodinàmic (2,54 ha), mentre a la finca Els Casots el sistema d'explotació és convencional (0,71 ha). La informació referent al maneig de les parcel·les (adobat, poda, treball del sòl i aplicació de plaguicides) va ser proporcionada per els propietaris.

#### 3.2. Mostratge

Es van prendre mostres de sòl de sis punts de cadascuna de les parcel·les amb diferent règim d'explotació al març i al juliol de 2008, just abans de començar i dos mesos després de finalitzar l'aplicació de compostos biodinàmics, respectivament. Els punts de mostratge van ser els mateixos que es venien utilitzant pel Servei de Sanitat Vegetal de la Generalitat de Catalunya per a fer el seguiment de plagues i malalties que afecten la part aèria de la vinya i que es mostren en la Figura 17. Els punts de mostreig es van ajustar d'acord amb les dimensions de cada cultiu; en el cultiu convencional les mostres es van agafar en les files 3, 6 i 9, i cada 20 ceps. En el ecològic van ser en les files 3, 6 i 9, i cada 7 ceps i en el biodinàmic van ser en les files 6, 9 i 12 per cada 20 ceps. En cada punt de mostratge es van prendre mostres de sòl de la rizosfera a dues profunditats, de 0 a 20 i de 20 a 40 cm de la superfície del sòl. Les mostres de 0 a 20 cm es van prendre amb una aixada (Figura 18) i les de 20 a 40 cm amb una barrina marca STIHL model BT 121 (Figura 19). Les mostres es van guardar amb bosses de plàstic etiquetades per ser transportades al laboratori per al seu processat. Durant el mostratge del mes de juliol, es va mesurar la respiració del sòl en el camp en una àrea de 78,53 cm<sup>2</sup> amb un l'aparell de respiració del sòl CIRAS-2 i SRC-1 i la temperatura a 5 cm. de profunditat.





**Figura 17:** Fileres on es van prendre les mostres de sòl de les parcel·les de vinya conreades en producció ecològica (marró), biodinàmica (blau) i convencional (negre) per a la determinació de la nematofauna fitoparàsita, entomopatògena i lliure i fongs entomopatògens.



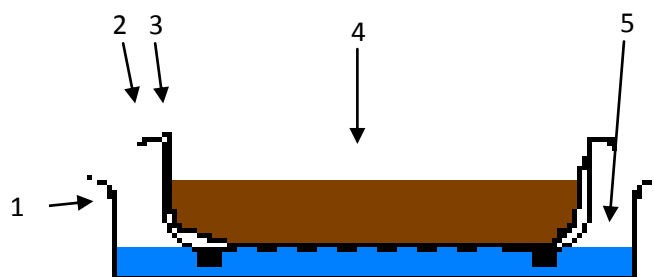
**Figura 18:** Presa de mostres de sòl de 0 a 20 cm de la superfície del sòl amb una aixada.



**Figura 19: Presa de mostres de sòl de 20 a 40 cm de la superfície del sòl amb una barrina STIHL model BT 121.**

### **3.3. Extracció de nematodes del sòl, comptatge i determinació.**

Les mostres de sòl van ser homogeneïtzades, es van separar les arrels i les pedres, es van desfer els terrosos i el sòl es va tamisar per un sedàs de 4 mm de llum de porus. La extracció de nematodes del sòl es va fer mitjançant el mètode de les safates de Baermann. El mètode d'extracció es basa en la mobilitat dels nematodes, que aprofiten l'aigua del sòl per moure's i anar cap a l'aigua. El sistema consisteix en una safata que conté un sedàs de 2 a 4 mm de llum de porus al damunt del qual s'hi diposita un paper de cel·lulosa que suporta un volum de 500 cm<sup>3</sup> de la mostra de sòl. A la safata s'hi posa aigua fins que arriba a la base del sedàs per tal de mantenir la mostra de sòl humida (Figures 20 i 21). Després d'una setmana els nematodes mòbils han travessat el paper i s'hi troben en l'aigua de la safata. La suspensió de nematodes es filtra a través d'un sedàs de 20µm de llum de porus on queden retinguts i es recullen en un vial per a la seva posterior quantificació i determinació.



**Figura 20: Components del mètode d'extracció de nematodes mòbils del sòl de la safata Baermann; 1. Safata, 2. Sedàs, 3. Banda de paper, 4. Mostra de sòl, 5. Aigua.**



**Figura 21: Sistema d'extracció de la Safata Baermann.**

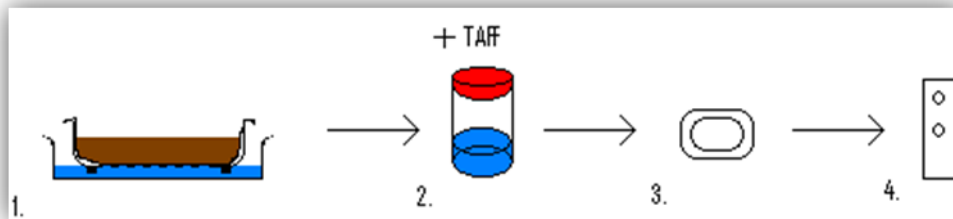
La suspensió de nematodes es va homogeneïtzar i 2 ml es van dipositar en una cambra de recompte tipus Hawksley per comptabilitzar-los al microscopi. La determinació dels nematodes es va fer paral·lelament al recompte segons característiques morfològiques. La determinació de nematodes es va fer fins a gènere, la de fitoparàsits segons les claus de Mai i Lyon (1975), i la de nematodes lliures segons les claus de J.T. Goodey (1963). Seguidament es va procedir a la mort, fixació i muntatge dels nematodes segons el mètodes de Grisse (1969) (Figures 22 i 23):

1. Es van posar les mostres de nematodes a l'estufa a uns 53-60º aproximadament durant 5 minuts, amb l'objectiu de produir la mort als nematodes.  
Passat aquest temps, es va treure la mostra i es va afegir el mateix volum de TAF 2X (Formaldehid, 14 ml; Trietanolamina, 4ml; Aigua destil·lada 82 ml).
2. Es van deixar les mostres amb TAF durant una setmana a temperatura ambient.
3. Després d'aquesta setmana, es va procedir a la pesca dels nematodes, posant-los dins un pouet que contenia Fixador II (Etanol al 96%, 95ml; Glicerina pura, 5ml) fins la meitat.
4. A continuació el pouet es va introduir en un recipient amb tanca hermètica que contenia alcohol al 96% i aquest posteriorment es va introduir dins l'estufa a 40º durant 24 hores.
5. Després d'aquestes 24 hores, el pouet es va assecat del recipient amb alcohol i es va deixar de nou a l'estufa fins que només van quedar unes gotes de Fixador II en el fons del pouet. Després es va afegir unes gotes de Fixador III (Etanol al 96%, 50ml; Glicerina, 50ml) fins a cobria de nou el que quedava de Fixador II, deixant de nou el pouet a l'estufa altres 24 hores.



6. Finalment, la mostra estava preparada per pescar els nematodes i muntar-los. En el cas de que no es procedeixi al seu muntatge es deixarà el pouet dins un dessecador.
7. Per muntar nematodes, es va fer en un portaobjectes on es va posar en el centre una gota de glicerina i els nematodes pescats s'anaven depositant en aquesta de forma ordenada, a continuació es va posar parafina al voltant de la gota de glicerina, amb l'objectiu de desfer la parafina perquè, d'aquesta manera, queda retinguda la glicerina amb els nematodes i així queden muntats permanentment.

Les preparacions permanents de nematodes van ser utilitzades per detectar estadis adults de nematodes lliures i determinar-los a nivell de gènere.



**Figura 22: Procediment del mètode de Grisse: 1.Safata Baermann, 2.Fixació dels nematodes en TAF, 3. Pouet entomològic per aplicar fixador II, i posteriorment fixador III, 4. Portaobjectes amb cercles de parafina pel muntatge dels nematodes.**



**Foto 23: Pouets entomològics per a la fixació dels nematodes del sòl segons el mètode de Grisse.**

### 3.4. Aïllament i determinació de nematodes i fongs entomopatògens.

Els nematodes i fongs entomopatògens van ser aïllats a partir de les mostres de sòl mitjançant la tècnica de l'esquer amb *Galleria mellonella* (Bedding i Akhurst, 1975; Zimmermann, 1986). Dues larves de *G. mellonella* es van introduir en cadascun dels pots que contenien 80 cm<sup>3</sup> de sòl homogeneïtzat i tamisat de cadascuna de les mostres. Els pots es van tapar i invertir per a cobrir les larves del lepidòpter i obligar-lo a moure's entre el sòl per incrementar la probabilitat de contactar amb espores de fongs i/o de nematodes entomopatògens. L'estat de les larves es revisava periòdicament, i si eren mortes (Fig. 24) es disposaven en trampa White per afavorir la sortida dels nematodes o la fructificació dels fongs entomopatògens. La trampa White consisteix en un vidre de rellotge contingut en una càpsula de Petri i cobert per un disc de paper de filtre humit, de menor diàmetre que la base de la placa, el qual suporta el cadàver de *Galleria mellonella*. La trampa s'incubava a 25°C i foscor durant una setmana fins la detecció dels nematodes o la fructificació dels fongs. Al cap d'aquest temps, de les trampes White amb cadàvers que no presentaven floridura, es prenia l'aigua de la base de la placa i s'observava al microscopi estereoscòpic per detectar la presència de nematodes entomopatògens, i en cas d'haver-hi es multiplicaven inoculant noves larves de *G. mellonella* per obtenir individus adults de primera i segona generació per a la seva determinació a nivell d'espècie. El procediment consistia en inocular larves del lepidòpter i obrir els cadàvers bé 2-4 o 5-7 dies després de la seva mort per a obtenir els adults de primera o segona generació, respectivament. Els adults eren fixats en TAF per a la seva posterior fixació segons el mètode de Grisse anteriorment descrit. Els juvenils que es recuperaven es conservaven a la nevera a 4°C de temperatura.



**Figura 24:** Larves de *G. mellonella* mortes per nematodes entomopatògens (esquerra) i vives (dreta).

En els cadàvers que s'observaven floridures produïdes per fongs, es feia una sembra en una placa de petri que contenia Agar-Rosa de Bengala-Cloranfenicol, que és un medi selectiu per a l'aïllament de fongs i llevats i restrictiu del creixement per a comptabilitzar les colònies. Les plaques s'incubaven a 25°C i foscor. Les colònies que creixien eren resembrades en PDA i alhora es muntaven preparacions per a la seva determinació, al microscopi, segons caràcters morfològics.

### **3.5. Estimació de la respiració del sòl en condicions controlades.**

La respiració del sòl de les mostres del mes de juliol es va determinar a camp, com ha estat explicat prèviament, i també es va determinar al laboratori, després d'haver tamisat el sòl per un sedàs de 4 mm de llum de porus, eliminat les arrels, les pedres, i desfet els terrosos. El sòl va ser introduït en una palangana d'acer inoxidable i es va mesurar l'emissió de CO<sub>2</sub> mitjançant l'aparell de respiració del sòl CIRAS-2 i SRC-1. Com que no totes les mostres tenien la mateixa quantitat de sòl, es va determinar el volum i el pes de la mostra de sòl per corregir la respiració en funció del volum i pes, respectivament.

### **3.6. Tractament de les dades.**

Es va contrastar l'efecte del sistema de producció, la fondària de mostratge, la data de mostratge i les interaccions entre les variables sobre l'abundància de nematodes fitoparàsits i lliures i la proporció de nematodes fitoparàsits i lliures. També es va determinar l'efecte del sistema de producció sobre la respiració del sòl en condicions de camp i de laboratori en el mostratge de juliol, així com la relació entre la respiració amb l'abundància de nematodes. Les dades d'abundància de nematodes fitoparàsits i de nematodes lliures de cada mostra i data de mostratge van ser transformades segons el  $\log(x+1)$ , i les proporcions de nematodes fitoparàsits i lliures de cada mostra van ser transformades segons l' $\arcsin(x)$  per normalitzar les dades. Les anàlisi de variància es van realitzar segons el procediment de models lineals generalitzats (proc GLM) del programa estadístic SAS. Quan l'anàlisi era significatiu ( $P < 0,05$ ), les mitjanes es van separar segons l'ajust Tukey de la funció LSMEANS. La correlació entre variables es va realitzar segons el procediment proc corr.

#### con4. RESULTATS

##### 4.1. Identificació i recompte de nematodes fitoparàsits entre els diferents tipus de gestió del sòl.

- Nematodes fitoparàsits:

La quantitat de nematodes fitoparàsits trobats (indicats en la Taula 1 i Figura 25) en cadascuna de les mostres de sòl ha sigut diferent en cada tipus de gestió de sòl: en el primer mostreig del convencional es va observar un total de 46,7 nematodes fitoparàsits en 500 cm<sup>3</sup> de sòl, en el segon mostreig aquesta quantitat va baixar fins a uns 16,4 nematodes. En aquest tipus de cultiu és on menys nematodes fitoparàsits s'ha trobat amb una diferència significativa pel que fa al tipus de gestió ecològic i biodinàmic. En l'ecològic es va trobar una mitjana de 454 i 22 nematodes per 500 cc de sòl en el primer i segon mostreig respectivament. És en aquest cultiu on es va apreciar una major minvada en la població de nematodes després dels corresponents tractaments ecològics. Pel que fa al cultiu biodinàmic els nematodes totals la densitat mitjana va ser d'uns 437 i 42 per 500 cc de sòl en el primer i segon mostreig respectivament, on al igual que en l'ecològic, també es va produir un fort minvament.

La varietat de gèneres de nematodes fitoparàsits trobats ha sigut semblant entre cultius: *Gracilacus*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Xiphinema*, *Tylenchorhynchus* i *Tylenchus*, tret del gènere *Heterodera*, que només s'ha trobat en el segon mostreig dels cultius ecològic i biodinàmic.

	Convencional		Ecològic		Biodinàmic	
	1er Mostreig	2on Mostreig	1er Mostreig	2on Mostreig	1er Mostreig	2on Mostreig
<i>Gracilacus</i>	4,4	1,5	22,6	0	16	1,9
<i>Heterodera</i>	0	0	0	6,3	0	28,5
<i>Paratylenchus</i>	7,5	3,3	176,8	8,4	318,7	1,8
<i>Pratylenchus</i>	19,3	8,7	205,3	1,7	75,7	4
<i>Tylenchorhynchus</i>	13,8	1,4	44,3	1,3	13,2	0
<i>Tylenchus</i>	1,7	0	5	1,7	0,8	3,8
<i>Xiphinema</i>	0	1,5	0	2,7	12,5	1,9

**Taula 1: Recompte i identificació de gèneres de nematodes fitoparàsits per cada tipus de gestió en 500 cm<sup>3</sup> de sòl.**

Els gèneres més importants pel que fa referència als danys que poden ocasionar a la vinya van ser els gèneres *Gracilacus*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus* i *Xiphinema*. En el cultiu convencional el gènere més predominant en tots dos mostrejos va ser el *Pratylenchus*. Es va observar una absència del gènere *Heterodera* en el primer i segon mostreig, així com un bon nombre de *Tylenchorhynchus* en el primer. En tots els gèneres la densitat de població de nematodes es va veure reduïda en el segon mostreig, tret del gènere *Xiphinema* que no es va identificar cap individu en el primer però si en el segon.

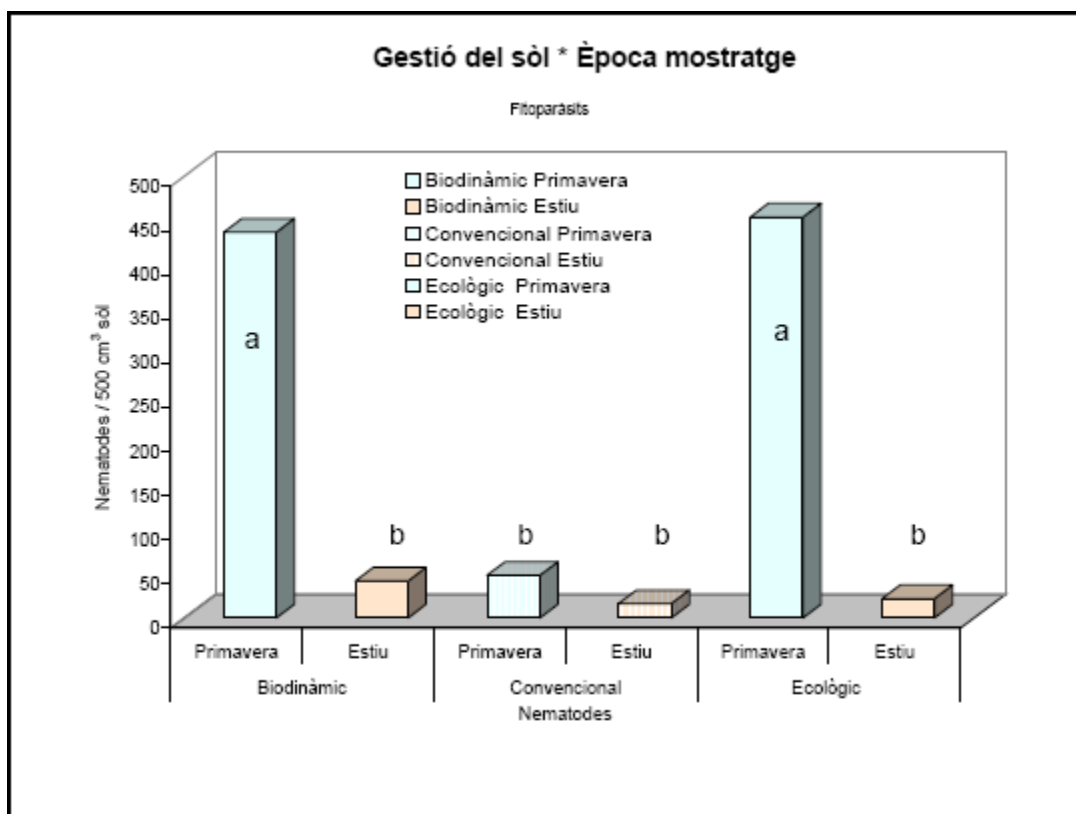
El cultiu ecològic va presentar una quantitat elevada de *Pratylenchus* i *Paratylenchus* on aquesta quantitat es va veure reduïda dràsticament en el segon mostreig. El gènere *Heterodera* només es va trobar en el segon mostreig al igual que el gènere *Xiphinema*.

En el biodinàmic també es van recomptar gran quantitat de nematodes sent el gènere *Paratylenchus* el més abundant amb molta diferència. En el segon mostreig les poblacions de nematodes es van reduir, i al igual que en el cultiu ecològic no va haver-hi presència del gènere *Heterodera* en el primer mostreig però si en el segon.

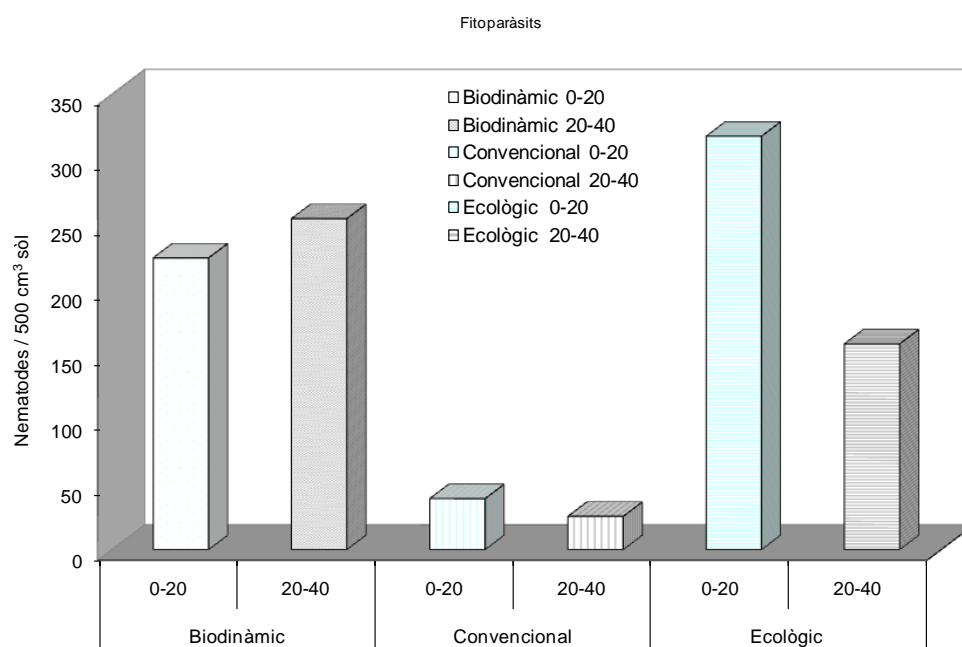
Els cultius biodinàmic i ecològic van tenir una resposta molt semblant amb respecte la quantitat de nematodes fitoparàsits en el primer mostreig i el segon, però en el cas del convencional va ser diferent; aquest cultiu tenia la mateixa quantitat de nematodes al primer mostreig i en el segon (Figura 25).

El recompte de nematodes fitoparàsits per les diferents fondàries (com s'indica en la Figura 26) de 0 a 20 cm. i de 20 a 40 cm. no van donar resultats prou significatius en els cultius convencional i biodinàmic, tret de l'ecològic que va representar gairebé el doble de nematodes fitoparàsits en les primeres capes del cultiu, de 0 a 20 cm. respecte el segon de 20 a 40 cm.

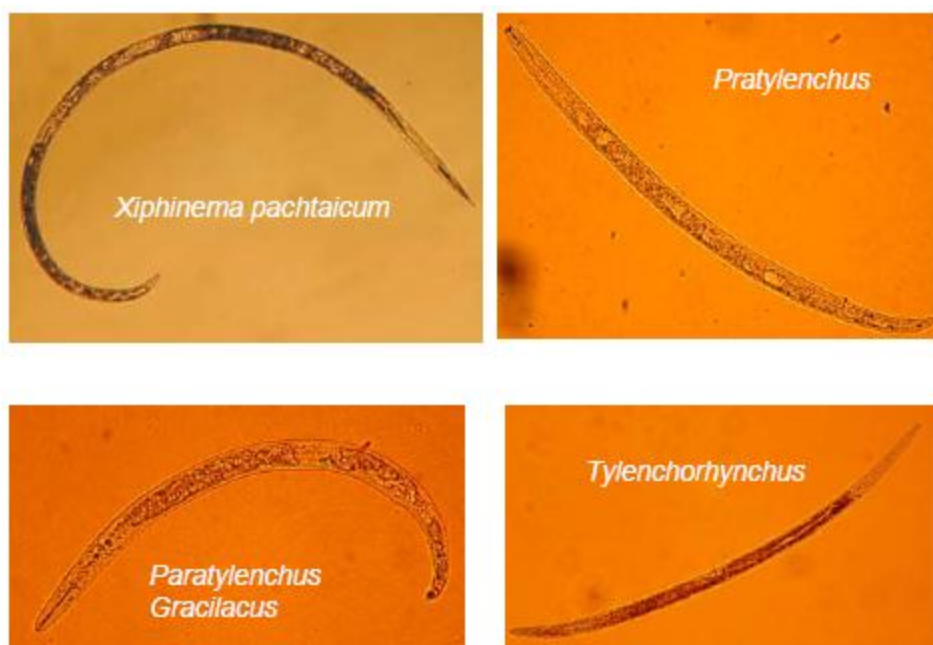




**Figura 25: Gràfic de representació de la mitjana de la densitat de nematodes fitoparàsits segons el tipus de gestió del cultiu i fondària del sòl**

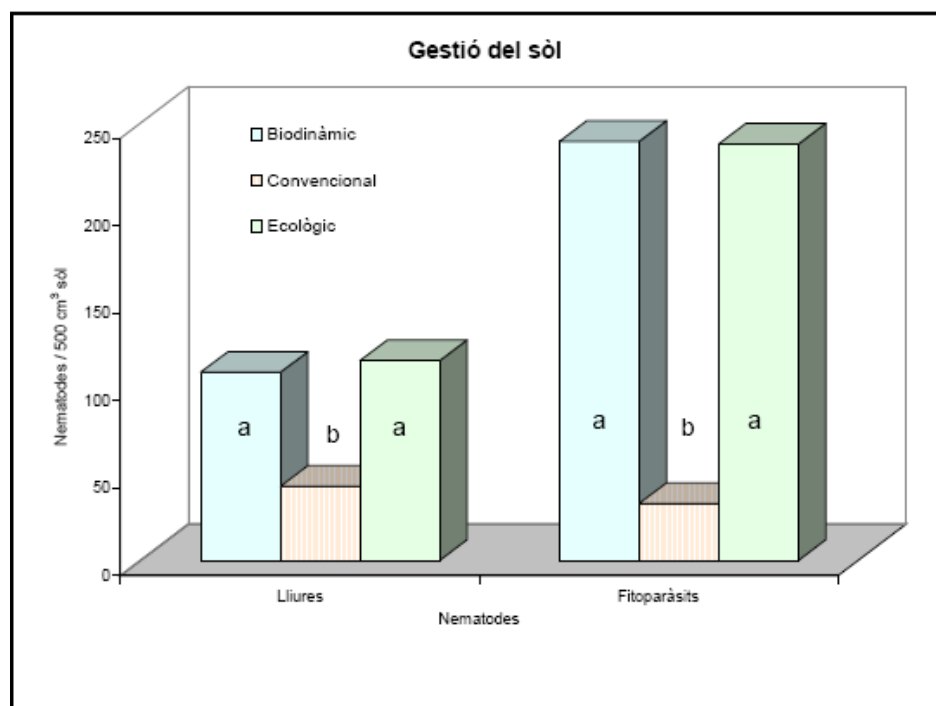


**Figura 26 : Gràfic de representació de la mitjana de la densitat de nematodes fitoparàsits segons el tipus de gestió del cultiu i fondària del sòl**

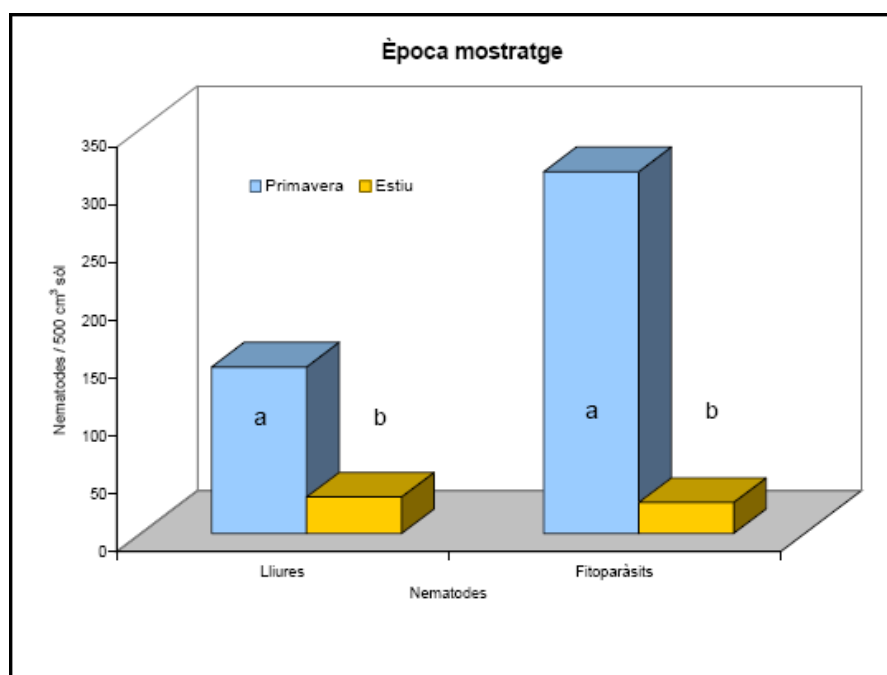


**Figura 27 : Imatges d'alguns dels gèneres de nematodes fitoparàsits identificats**

En el cas dels nematodes lliures, el resultat va ser semblant on la densitat de nematodes va ser la mateixa per als cultius ecològic i biodinàmic però no en el convencional (Figura 28 i 29).



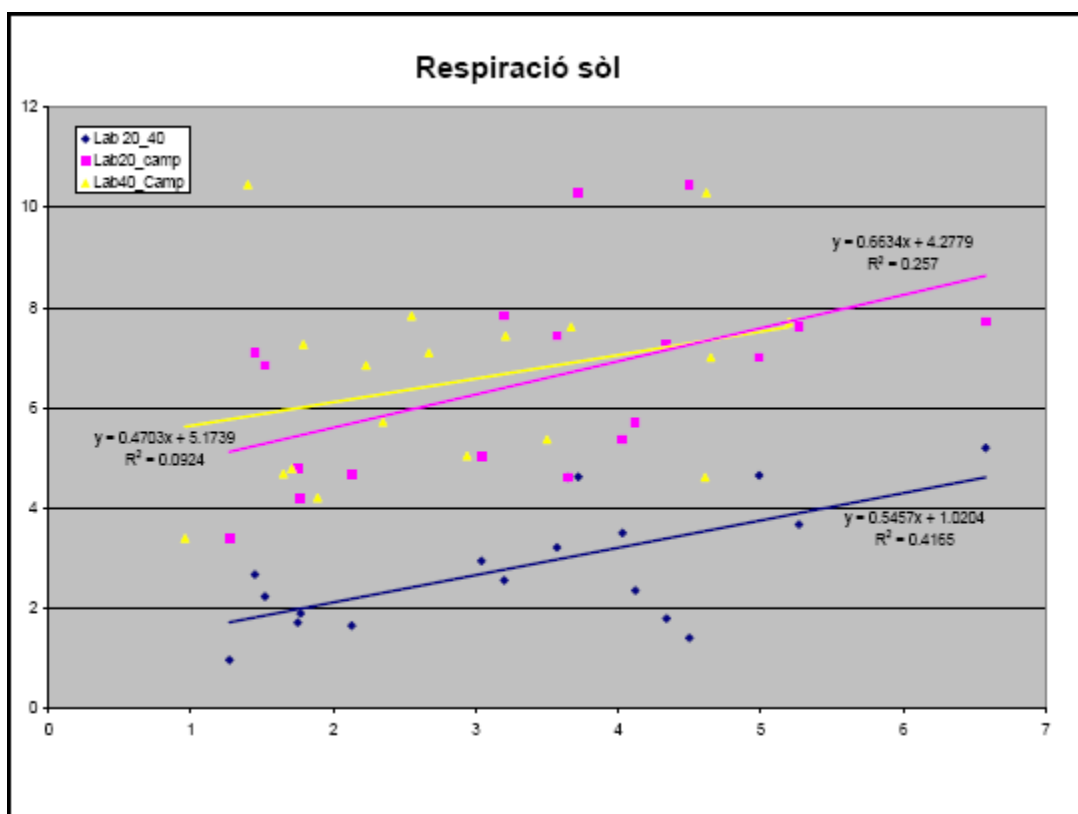
**Figura 28: Densitat de nematodes lliures i fitoparàsits respecte els diferents tipus de gestió del sòl**



**Figura 29: Densitat de nematodes lliures i fitoparàsits respecte els diferents tipus de gestió del sòl**

Es va analitzar la respiració en cada punt de mostreig realitzat per contrastar l'efecte del sistema de producció, fondària de mostratge, data de mostratge i les interaccions entre les variables sobre l'abundància de nematodes fitoparàsits i lliures i la proporció de nematodes fitoparàsits i lliures. Els resultats obtinguts van ser contradictoris ja que en algunes de les mostres on hi havia més quantitat de nematodes, eren les que menys respiració tenien i al contrari, per tant els anàlisis de respiració obtinguts no han tingut similituds amb els resultats dels nematodes. Per aquesta raó es pot intuir que altres factors que no s'han estudiat en aquest projecte com ara altres organismes, microorganismes i CO<sub>2</sub> poden influir en els resultats.

També es van contrastar els resultats de l'anàlisi de respiració en el camp amb la realitzada en el laboratori (Figura 30) i, tot i que es va analitzar el mateix dia, es van produir diferències entre les mateixes mostres.

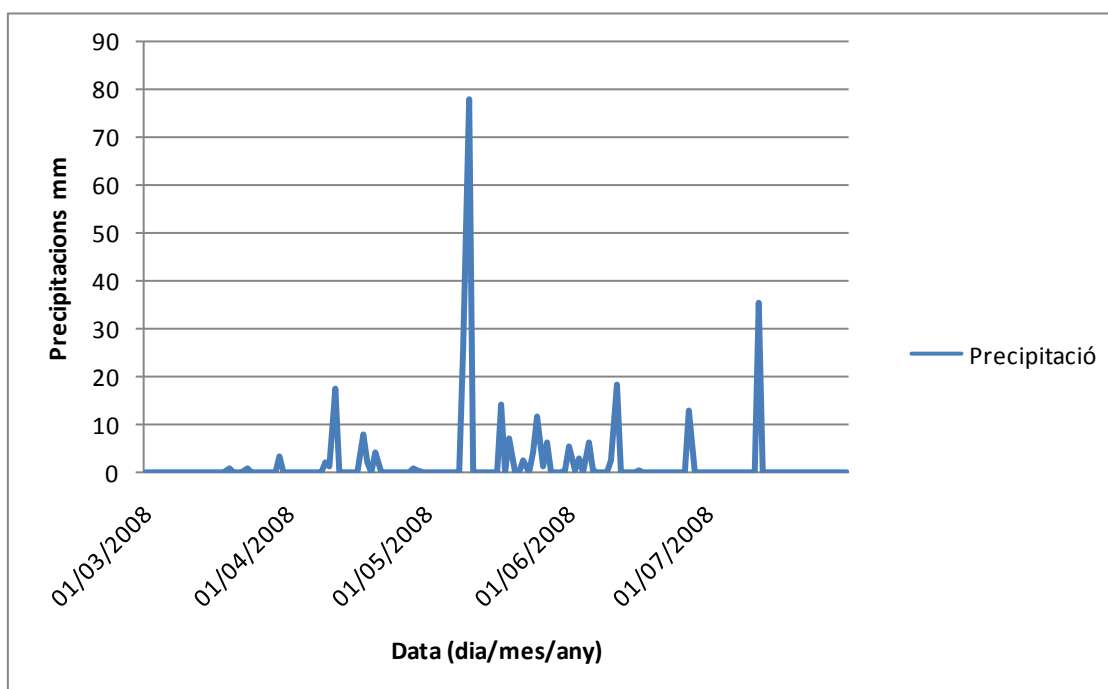


**Figura 30:** Gràfic de la respiració del sòl en blau mesurat al camp a 0-20 cm, rosa respiració en el laboratori a 20 cm. i groc a 40 cm.

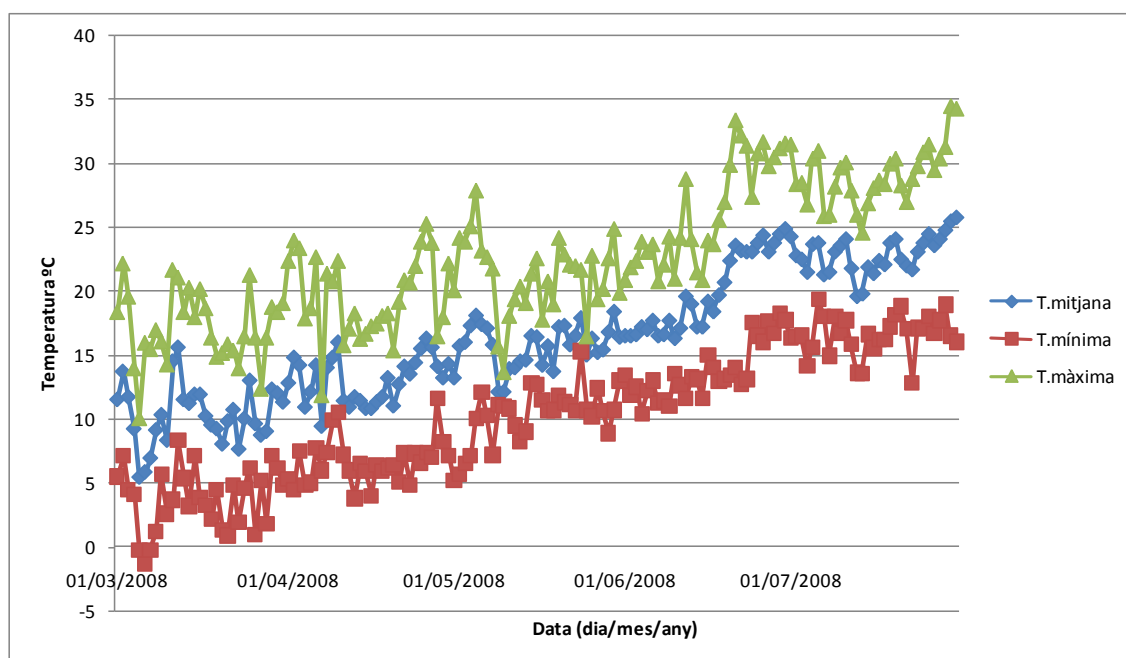
- Fitoparàsits vs. Lliures:

#### 4.2. Fluctuació de la densitat de nematodes fitoparàsits i lliures.

Els mostrejos es van realitzar en diferents estacions de l'any; el primer va ser en primavera, exactament el dia 11 de març i el segon es va realitzar el dia 15 de juliol. Aquest últim mostreig va ser posposat ja que la setmana prevista per realitzar-lo van haver-hi precipitacions (indicat en la Figura 31). Aquestes diferències d'humitat i temperatura (Figures 31 i 32) en els diferents mostrejos poden haver influenciat en els resultats obtinguts. Com es pot observar en el gràfic, va haver-hi una forta precipitació a mitjans del mes de maig de gairebé uns 80 mm mentre que les màximes precipitacions en la zona són no arriben als 20 mm. També es pot observar en la mateixa Figura les precipitacions just abans de realitzar el segon mostreig, com ja s'ha esmentat abans.



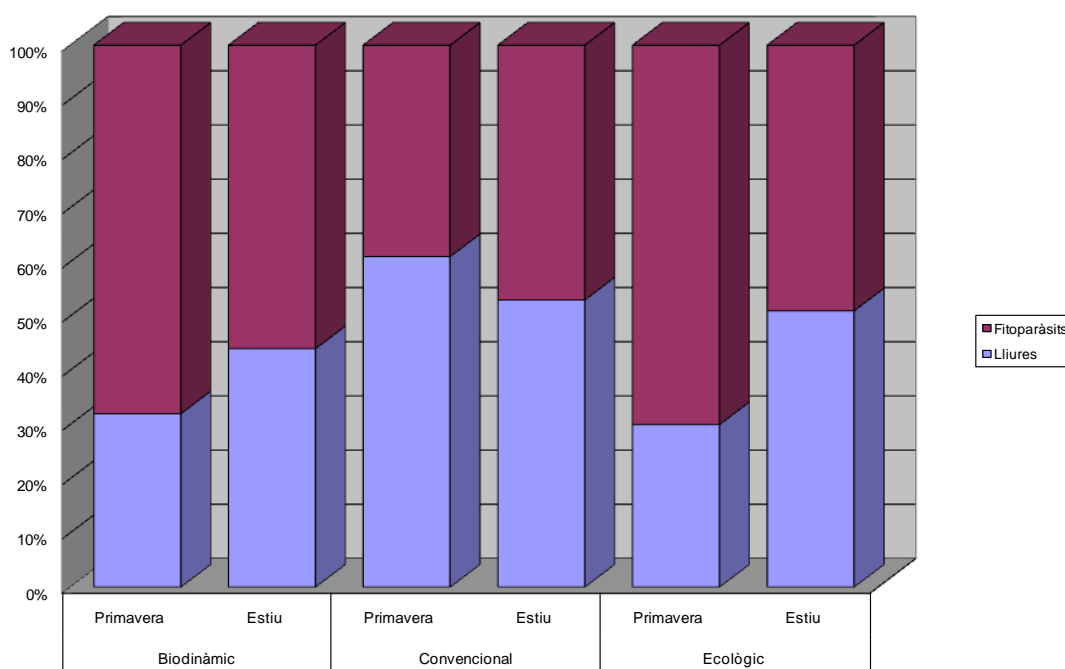
**Figura 31 : Gràfic de precipitacions (mm) des del primer mostreig fins el segon**



**Figura 32: Gràfic de temperatures (°C) des del primer mostreig fins el segon**

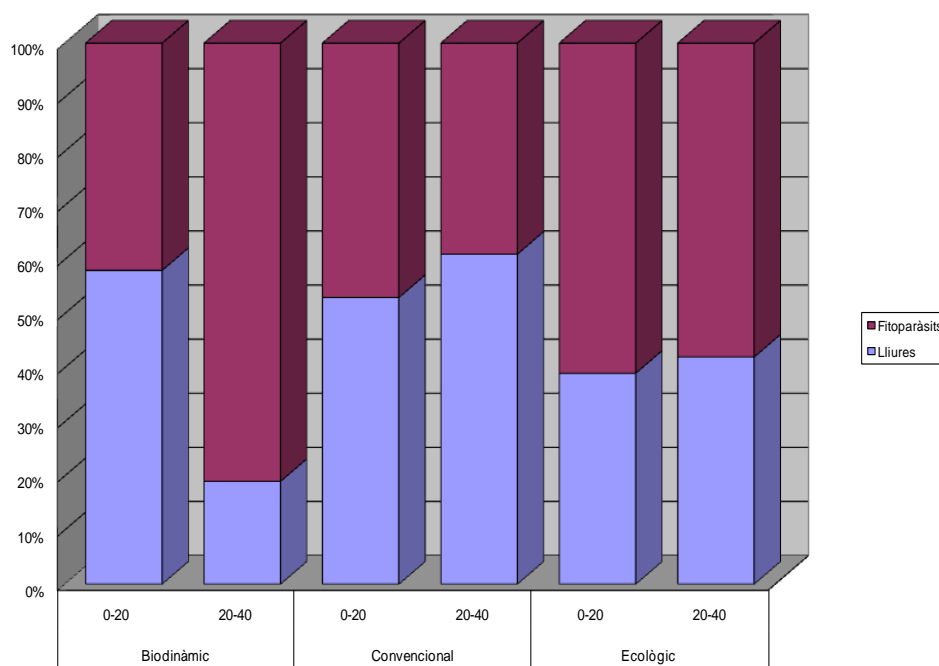
La informació referent a les diferents pràctiques de maneig de les parcel·les va ser proporcionada per els propietaris de les finques (Annex 2). Aquestes també poden haver influenciat en els resultats obtinguts ja que algunes poden afavorir la densitat total de nematodes.

En calcular les proporcions de nematodes lliures i els fitoparàsits amb respecte l'estació de l'any on es van produir els mostrejos (Figura 33), s'observà unes proporcions semblants entre lliures i fitoparàsits en el cultiu convencional en tots dos mostrejos i és aquest cultiu que menys nematodes fitoparàsits contenia. En el cultiu ecològic i biodinàmic s'observà que aquestes proporcions eren gairebé les mateixes: en el primer mostreig hi havia aproximadament un 70% de nematodes fitoparàsits, i en el segon aquesta quantitat es veu igualada al voltant del 50%.



**Figura 33: Gràfic de representació de la proporció de nematodes lliures i fitoparàsits segons el tipus de gestió del cultiu i estació de l'any**

Es va fer una comparació amb la quantitat de nematodes i la profunditat del sòl per poder establir una possible relació. Es va observar una baixada dràstica de nematodes lliures a més profunditat en el cultiu biodinàmic, però pel que fa al convencional i ecològic es va mantenir una proporció semblant tal com s'indica en la Figura 34.



**Figura 34: Gràfic de representació de la proporció de nematodes lliures i fitoparàsits segons el tipus de gestió del cultiu i profunditat del sòl**

La quantitat trobada de nematodes lliures ha estat similar en tots tres tipus de gestió del sòl, tant en el primer com al segon mostreig, per tant no els ha perjudicat les pràctiques de gestió imposades en cada tipus de cultiu.



- Fongs i nematodes entomopatògens:

#### 4.3. Localització i identificació de fongs i nematodes entomopatògens en els diferents punts de mostreig de les parcel·les de cultiu convencional, ecològic i biodinàmic.

A la Figura 35, es mostra la presència/absència i gènere en el cas dels fongs, en les parcel·les elementals mostrejades i detectats amb la trampa de *Galleria menonella*. En general, s'ha trobat fongs però amb poca diversitat ja que en la majoria dels punts hi predominava el *Fusarium* (Figura 36).

En el cultiu convencional és el cultiu que més nematodes entomopatògens presentava i on més ràpid va morir l'hoste per nematodes entomopatògens, només va trigar en matar l'individu 3 dies. Aquest fet es va produir en el punt C5 del primer mostreig, i per totes dues profunditats. Pel que fa als fongs entomopatògens, va predominar el tipus *Fusarium*.

En les mostres de sòl procedents del cultiu ecològic, només es va aïllar *Fusarium* en una de les parcel·les i a una profunditat (E4/20) en el primer mostreig. En el segon mostreig però, es va detectar *Fusarium* en dues parcel·les juntament amb *Alternaria* en dues d'elles, a més a més i *Penicillium* en un altre parcel·la (E6/40). També es van aïllar nematodes entomopatògens en una parcel·la en el segon mostreig (E5/20).

En les mostres de sòl procedents del cultiu biodinàmic també es van aïllar més organismes entomopatògens en el primer mostreig que en el segon. Pel que fa als fongs identificats trobem que en el primer mostreig hi predomina el *Paecilomyces* i algun *Fusarium*, en el segon trobem més varietat, encara que *Fusarium* va ser el més abundant; (*Fusarium* amb *Alternaria*, *Fusarium* i algun *Mucor* amb *Fusarium*). Es van aïllar nematodes entomopatògens de dues de les parcel·les (B3/40 i B6/40) en el segon mostreig.

Els nematodes entomopatògens aïllats de totes les mostres es van identificar a nivell de gènere i corresponia a *Steinernema* (Figura 37).

1er mostatge

Mostra	Fongs	Nematodes	Bacteris
C1/20			
C1/40			
C2/20			
C2/40	<i>Fusarium</i>		
C3/20	<i>Beauveria</i>		
C3/40			
C4/20	<i>Fusarium</i>		
C4/40	<i>Fusarium</i>		
C5/20		x	
C5/40		x	
C6/20	<i>Fusarium</i>		
C6/40			

E1/20			
E1/40			
E2/20			
E2/40			
E3/20			
E3/40			
E4/20	<i>Fusarium</i>		
E4/40			
E5/20			
E5/40			
E6/20			
E6/40			

B1/20			
B1/40			
B2/20			
B2/40	<i>Paecilomyces</i>		
B3/20			
B3/40	<i>Paecilomyces</i>		
B4/20			
B4/40	<i>Paecilomyces</i>		
B5/20			
B5/40	<i>Paecilomyces</i>		
B6/20	<i>Fusarium/Beauveria</i>		
B6/40	<i>Fusarium</i>		

2on mostatge

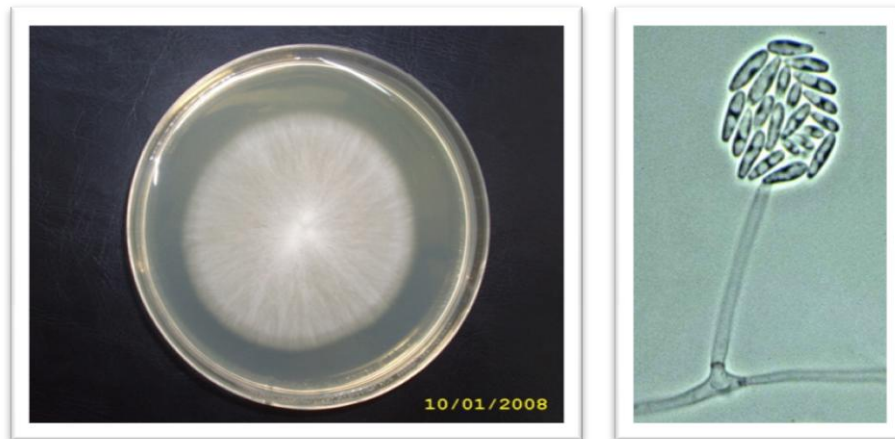
Mostra	Fongs	Nematodes	Bacteris
C1/20	<i>Fusarium</i>	x	
C1/40			
C2/20		x	
C2/40			
C3/20	<i>Fusarium</i>		
C3/40	<i>Fusarium</i>		
C4/20	<i>Fusarium</i>		
C4/40			
C5/20	<i>Fusarium</i>		
C5/40			
C6/20		x	
C6/40		x	

E1/20	<i>Alternaria/Fusarium</i>		
E1/40			
E2/20			
E2/40			
E3/20	<i>Alternaria/Fusarium</i>		
E3/40	<i>Fusarium</i>		
E4/20			
E4/40			
E5/20		x	
E5/40			
E6/20			
E6/40	<i>Penicillium</i>		

B1/20			
B1/40	<i>Alternaria/Fusarium</i>		
B2/20	<i>Fusarium</i>		
B2/40	<i>Fusarium</i>		
B3/20	<i>Mucoral/Fusarium</i>		
B3/40		x	
B4/20	<i>Fusarium</i>		
B4/40	<i>Fusarium</i>		
B5/20	<i>Alternaria/Fusarium</i>		
B5/40			
B6/20	<i>Alternaria/Fusarium</i>		
B6/40	<i>Fusarium</i>	x pocs	

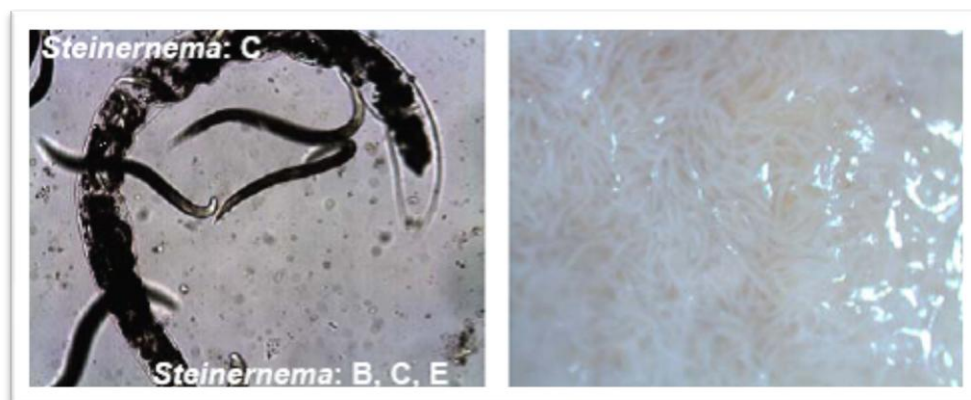
 = *Galleria menonella* va arribar a l'estat adult.

**Figura 35: Taula de identificació de fongs, nematodes i bacteris entomopatògens dels diferents gestió de cultius (C: Convencional; E: Ecològic; B: Biodinàmic) en els dos mostrejos realitzats.**



**Figura 36:** Fong *Fusarium* creixement en placa (esquerra) i vist amb microscopi (dreta)

**Font:** Pròpia, 2008.



**Figura 37 :** Nematodes entomopatògens trobats en les mostres de sòl (gènere *Steinernema*)

**Font:** Pròpia, 2008.

## 5. DISCUSSIÓ

La densitat de població dels nematodes fitoparàsits va ser inferior després dels tractaments corresponents per cada tipus de cultiu, així doncs es pot dir que segons quin tractament es faci servir, aquest tindrà unes conseqüències en el cultiu. En els cultius ecològic i biodinàmic presentà més quantitat i diversitat de nematodes en general. Aquest resultat ha pogut ser influït per les diferents pràctiques de treball de cada cultiu (Annex 2), on en l'ecològic i sobretot el biodinàmic els sòls són enriquits amb adobs rics amb matèria orgànica. En canvi el convencional, només s'afageixen els tractaments imposats per evitar plagues i malalties (químics sintètics) i no s'introdueix cap mena d'adob en el cultiu. En els cultius ecològic i biodinàmic no es fan tractaments per combatre les males herbes, raó de més per a que la matèria orgànica sigui diferent en cada gestió (en el cultiu convencional sí que es treuen les males herbes). Cal dir però que segons l'estudi realitzat per Carpenter-Boggs i col·laboradors, 2000 sobre els efectes de la biologia en el sòl, comparant el sistema biodinàmic amb un que no ho fos, no es van trobar diferències significatives de la composició microbiana en els sòls però els que reben fertilització orgànica y els biodinàmics tenen la mateixa composició microbiana i aquesta és més activa que els sòls que no en tenen.

Pel que fa al maneig sobre les males herbes, l'estudi de Yeates i col·laboradors, 1993 esmenten que els resultats obtinguts de la biomassa microbiològica en el sòl poden interactuar sobre les pràctiques realitzades sobre el cultiu i amb els factors ambientals del medi, per tant aquests resultats tampoc poden ser significatius.

Com diu l'estudi de l'apartat anterior, els factors exteriors influeixen en els resultats obtinguts. En el primer mostreig realitzat, les temperatures i les precipitacions eren molt més baixes que en el segon, fins i tot van haver-hi xàfec dies abans del segon mostreig, i aquesta humitat pot influenciar a la densitat de població dels nematodes. En realitzar les extraccions de les mostres, el sòl canviava de textura en pocs metres de distància d'un punt de mostreig a un altre. Hi ha textures del sòl que aguanten més la humitat que altres, fent un ecosistema idoni per els nematodes, altre punt a tenir en compte alhora de avaluar els resultats obtinguts. De la mateixa manera segons la profunditat del sòl també pot variar la seva textura, i tot que no s'han trobat diferències significatives en la densitat de població de nematodes en aquest aspecte, però amb l'excepció del cultiu ecològic on s'ha pogut observar més quantitat de nematodes fitoparàsits en els primers 20 cm. del sòl.

Pel que fa a les proporcions de nematodes fitoparàsits i lliures, ha estat molt igualada en els cultius ecològic i biodinàmic que en el convencional on la proporció de fitoparàsits a sigut molt més baixa. Aquesta diferència pot ser deguda a l'aportació de matèria orgànica que aquests cultius requereixen, i d'aqueta manera poblacions d'aquells nematodes lliures els quals s'alimentin d'aquesta matèria orgànica es veuen afavorits.

L'historial de cada cultiu també es un factor a tenir en compte, ja que per considerar que un cultiu biodinàmic esta finalment "biodinamitzat" i considerar-lo com a tal, s'han d'aplicar totes les pràctiques del corresponent cultiu en un mínim de 3 anys i el cultiu de Caves Recaredo fa els tractaments des de fa 2 anys. En canvi, el cultiu ecològic ja té l'antiguitat suficient per considerar-lo finalment ecològic. Tot i així, els resultats obtinguts han sigut molt semblants entre el cultiu de gestió ecològica i biodinàmica, tret que determina que els tractaments amb químics sintètics (tractaments utilitzats en els cultius convencionals) si que redueixen d'alguna manera a la densitat de població dels nematodes però després de fer les corresponents aplicacions dels preparats en els cultius ecològic i biodinàmic la quantitat de nematodes van minvar fins al punt de comparar-se amb el cultiu convencional.

Els resultats de respiració analitzats tant en el camp com en el laboratori, tampoc van ser significatius en la comparació de les densitats de la nematofauna en els tres tipus de cultius, ja que hi ha molts factors que poden influir en els anàlisis.

No s'han trobat les mateixes proporcions de gèneres de nematodes fitoparàsits en els diferents tipus de gestió dels cultius, segons la densitat de població d'alguns gèneres trobats poden ser més perjudicials en el cultiu que altres, per aquesta raó és important saber els tipus de nematodes que hi predominen en el sòl.

Nematodes	Nivell de dany	Nematodes en sòl/500cm <sup>3</sup>	
		Hivern	Estiu
<i>Meloidogyne ssp.</i>	Baix	< 48,1	< 15,6
	Mitjà	48,1-325	130
	Alt	> 325	> 130
<i>Pratylenchus spp.</i>	Baix	< 13	
	Mitjà	13-65	
	Alt	> 65	
<i>Xiphinema index</i>	Baix	< 13	
	Mitjà	13-130	
	Alt	> 130	
<i>Paratylenchus spp.</i>	Baix	< 65	
	Mitjà	65-650	
	Alt	> 650	

**Taula 2: Relacions entre la densitat de nematodes en el sòl amb el nivell de dany estimat en la vinya *Vitis vinífera*. (Nicol i col.laboradors,1999.)**

Els gèneres trobats més importants per la densitat de població trobada, han sigut el *Pratylenchus* i *Paratylenchus*. Tots tres cultius han coincidit amb la presència d'aquests gèneres i en el primer mostreig realitzat, just abans de fer els corresponents tractaments. En el segon mostreig la quantitat de nematodes fitoparàsits trobats no representava una amenaça per a cap cultiu de vinya.

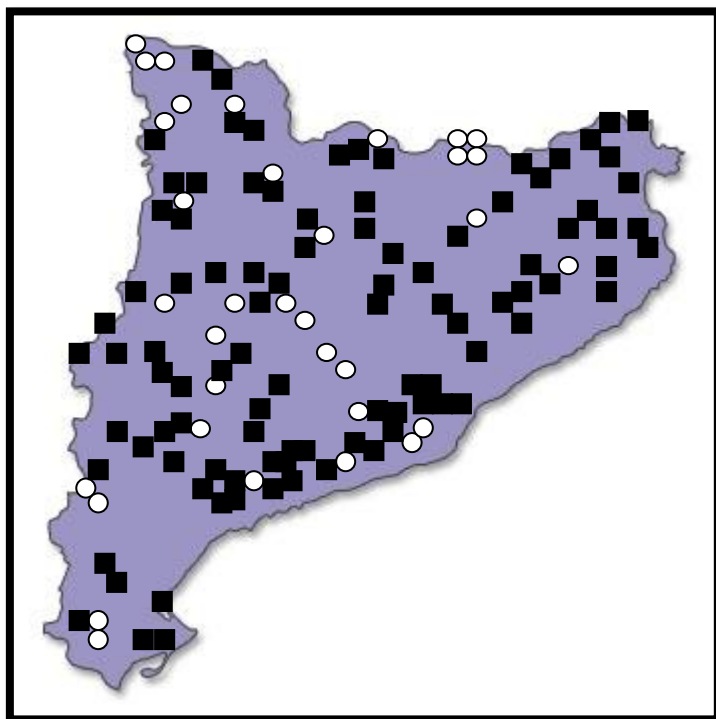
S'ha trobat gèneres de *Xiphinema*, però no es té constància de cap *Xiphinema index*, uns dels 8 fitoparàsits més importants de la vinya per ser vector de virus importants com el virus de l'entrenús curs (GFLV).

El cultiu que més pot estar perjudicat per els nematodes fitoparàsits és el cultiu ecològic, amb una elevada quantitat de *Pratylenchus*, seguit del cultiu biodinàmic amb molta menys quantitat.

Per altre banda, el convencional que era el cultiu que menys nematodes fitoparàsits contenia, ha sigut el més nombrós en quant els nematodes entomopatògens.

Segons l'article de Garcia del Pino i Palomo (1996) després de fer un estudi on es feia servir la *Galleria* com a trampa per a determinar la quantitat i tipus de nematodes entomopatògens d'uns 750 sòls de 150 llocs diferents de tota Catalunya (Figura 35), es va

arribar a la conclusió que el gènere predominant era *Steinernema* tret d'alguns llocs com Barcelona i Gavà on es va trobar presència d' *Heterorhabditis*.



**Figura 38:** Mapa dels llocs de mostreig dels nematodes entomopatògens de Catalunya.

(■) llocs sense nematodes, (○) llocs amb nematodes

**Font:** Article; *Natural Occurrence of Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae in Spanish Soils, 1995.*

El gènere trobat en les mostres de sòl d'aquest treball, va ser el *Steinernema*. Aquest resultat no és massa sorprenent ja que com s'ha esmentat abans, és el més abundant a Catalunya. El cultiu on més es va trobar presència de nematodes entomopatògens va ser el cultiu convencional, raó de més per arribar a la conclusió que els tractaments practicats en el cultiu podrien afectar a unes poblacions de nematodes (en aquest cas als nematodes fitoparàstis) per afavorir uns altres.

Els nematodes entomopatògens són de recent ús en l'agricultura en comparació amb altres mètodes de control biològic. El seu ús i aplicacions en el control de insecte-plaga és poc comú, degut, en gran part, al descobriment que es té dels mateixos.

Els fongs entomopatògens han sigut variats segons el tipus de cultiu, diversos factors del medi (temperatura, humitat, textura del sòl, tractaments i l'historial del cultiu) abans esmentats han pogut afavorir aquestes diferències que també han afectat als tipus de fongs trobats.

En tots els sòls el gènere *Fusarium* ha estat present, però on ha sigut més nombrós ha estat en el cultiu convencional. En el primer mostreig del cultiu ecològic, només una parcel·la presentà fong, on aquest fet podria tenir explicació tenint en compte l'historial d'aquest tipus de gestió, on és més antic que el biodinàmic i les pràctiques i tractaments han estat més assimilats en el sòl i ambient.

En general, els resultats han sigut molt diferents entre cultius i mostretjos, on les parcel·les d'un mateix cultiu no han coincidit amb el segon mostreig realitzat. Les temperatures i precipitacions uns dies abans dels segon mostreig han pogut influenciar a obtenir aquests resultats.



## 6. CONCLUSIONS

La quantitat de la nematofauna presentà diferències segons quin tipus de gestió del sòl que es fa. En el cultiu convencional la quantitat era molt més baixa sense cap tipus de tractament, però en els cultius ecològic i biodinàmic aquestes es redueixen un cop fets els tractaments corresponents. Per aquest motiu es pot dir que els químics sintètics utilitzats en el cultiu convencional són més agressius i perduren més que els altres tractaments, en canvi els fongs no es veuen afectats per aquests en cap tipus de cultiu. Per tant, els cultius ecològic i biodinàmic tindran més problemes amb els fitoparàsits abans dels tractaments a causa de la densitat d'algunes espècies.

L'estació de l'any pot ser un factor determinant per a segons quins nematodes; a la primavera hi ha més fitoparàsits en els cultius biodinàmic i ecològic mentre que en el convencional és tot el contrari, tot i que els efectes podrien coincidir amb els efectes produïts per els tractaments realitzats de cada cultiu. Per altra banda, tant els nematodes entomopatògens com els fongs són més nombrosos amb temperatures més càlides en tots tres cultius.

La profunditat del sòl no resulta un condicionant per als nematodes i fongs, tret del cultiu biodinàmic on a més profunditat, més densitat de nematodes fitoparàsits i fongs entomopatògens però just abans dels tractaments.

La mesura de la respiració no ha sigut conclouent, ja que qualsevol petita variació afectava als anàlisis.

Adams Byron J. i Nguyen Khuong B.,2002. Taxonomy and Systematics. Entomology and Nematology Department, University of Florida, PO Box 110620, Gainesville, Florida, USA.

Asociación de agricultura biodinàmica de España,2006. Web: <http://www.asoc-biodinamica.es> (Consultada: 10/9/08)

Campos-Herrera Raquel, Escuer Miquel,Labrador Sonia,Robertson Lee,Barrios Laura, Gutiérrez Carmen, 2007. Distribution of the entomopathogenic nematodes from la Rioja (Northern Spain). Journal of invertebrate pathology 95 125-139.

Carpenter-Boggs L., Kennedy A.C. I Reganold J.P.,2000. Organic and biodynamic Management: Effects on Soil Biology. Published in Soil Sci. Soc. Am. J. 64:1651-1659

Castillo P., Rapoport H. F., Palomares Rius J. E. i Jiménez Díaz R. M.,2008. Suitability of weed species prevailing in Spanish vineyards as hosts for root-knot nematodes. Eur J Plant Pathol 120:43–51.

De Altube Mar M., Martínez Peña Alejandro i M. Montoro Enrique, 2006. ¿Qué son los nemátodos entomopatógenos?. Gardenmagazine. Web: <http://gardenmagazine.es>. (Consultada el día 22/08/08)

El Centro de Tesis, Documentos, Publicaciones y Recursos Educativos más amplio de la Red, 1997. Uso de hongos entomopatógenos en el control de ectoparásitos. Monografias.com S.A.Web: [www.monografias.com/trabajos29/hongos-entomopatogenos/hongos-entomopatogenos.shtml#hongos](http://www.monografias.com/trabajos29/hongos-entomopatogenos/hongos-entomopatogenos.shtml#hongos). (Consultada: 17/9/08)

García del Pino F. i Palomo A., 1996. Natural Occurrence of Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Spanish Soils. Departament de Biologia Animal, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, Espanya. Journal of Invertebrate pathology 68,84-90. Article Nº 0062.

Georgieva Slavka S., McGrath Steve P. ,Hooper David J. i Chambers Brian S., 2002. Nematode communities under stress: the long-term effects of heavy metals in soil treated with sewage sludge. Applied Soil Ecology 20 ,27-42.

Goodey J.T., 1963. Soil and freshwater nematodes. London: Mathuen & Co Ltd, N.Y: John Wiley & Sons, INC.

Grisse, 1969. Protocol de laboratory (ESAB). "Mètode de Griesse : Mort i fixació de nematodes"

Mai, W. F., Lyon, H. H, 1975. Pictorial key to genera of plant-parasitic nematodes.

Ministerio de Agricultura SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria), 2008. PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS. Web: [www.senasa.gob.pe](http://www.senasa.gob.pe). (Consultada: 17/9/08)

Nicol J.M., Stirling G.R.,Rose B.J.,May P. i Van Heeswijck R., 1999. Impact of nematodes on grapevine growth and productivity: current knowledge and future directions, with special reference to Australian viticulture. Australian Journal of Grape and Wine Research 5, 109-127. 1999.

Pérez-Piqueres Ana, Edel-Hermann Véronique, Alabouvette Claude i Steinberg Christian, 2006. Response of soil microbial communities to compost amendments Soil Biology & Biochemistry 38 ,460-470.

Prat Codina Marta, 1999. TFC: Fluctuació de la densitat de població de nematodes del gènere *Xiphinema* en les varietats de vinya "Macabeu" i "Xarel.lo" a Torre Marimón, Caldes de Montbui.

Rosales Ligia Carolina, Suárez H. Zoraida, Navas Ramón i Tellechea Víctor, 1999. Nematodos entomopatógenos: II. Uso en control biológico. Web: <http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd64/texto/nematodos.htm>. FONAIAP Divulga No.64 (Consultada el dia 22/08/08)

Sánchez-Moreno Sara i Ferris Howard, 2007. Suppressive service of the soil food web: Effects of environmental management. Agriculture, Ecosystems and Environment 119, 75-87.

SANTO G. S. i BOLANDEW W. J., 1996. Effects of *Macroposthonia xenoplax* on the Growth of Concord Grape. College of Agriculture Research Center, Project 0240, Washington State University. Scientific Paper No. 4590.

Suárez Zoraida i C. Rosales Ligia, 1990. "Nematodos asociados a los frutales y su control. I: frutales perennes" web: [www.fonaiap.gov.ve](http://www.fonaiap.gov.ve) (Consultada el dia 22/08/08)

Tamayo H. Manuel, 1999. Nematodos. Universidad Católica de Maule, Talca, Chile.

Van der Wurff A.W.G., Kools S.A.E., Boivin M.E.Y., Van den Brink P.J., Van Megen H.H.M., Riksen J.A.G., Doroszuk A. , i Kammenga J.E., 2007. Type of disturbance and ecological history determine structural stability. Ecological Applications, 17(1), 2007, pp.190-202 en el Ecological Society of America.

Verema.com, 2008. Web: <http://www.verema.com> (Consultada: 9/10/08)

Wikipedia la enciclopedia libre, 2008. Web: <http://es.wikipedia.org> (Consultada: 7/6/08)

Yeates F.W., 1984. Variation in soil nematode diversity under pasture with soil and year. Soil Biol. Biochem. Vol. 16, Nº. 2, pp. 95-102.

Yeates G.W., Bongers T., de Goede R.G.M., Freckman D.W., i Georgieva S.S., 1993. Feeding Habits in Soil Nematode Families and Genera---An Outline for Soil Ecologists. The Society of Nematologists. Journal of Nematology 25(3): 315-331. 1993.

Yeates G.W., Wardle D.A. i Watson R.N., 1993. Relationships between nematodes, soil microbial biomass and weed-management strategies in maize and asparagus cropping systems. Soil Biol. Biochem. Vol. 25, Nº. 7, pp. 869-876.